

НЕФРОЛОГИЯ NEPHROLOGY

ИЗДАТЕЛЬСТВО СПбГМУ
ИЗДАТЕЛЬСТВО «ЛЕВША»
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ • 2009

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

V.A.Dobronravov, I.G.Kayukov

Editorial Board

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

Executive Secretary

I.I.Trofimenko

Executive managing editor

A.I.Kulikova

Editorial advisory board

M.D.Didur (St.Petersburg, Russia), A.I.Gozhenko (Odessa, Ukraine), K.Ya.Gurevich (St.Petersburg, Russia), D.D.Ivanov (Kiev, Ukraine), T.V.Zhdanova (Ekaterinburg, Russia), A.J.Karabaeva (Alma-Ata, Kazakhstan), V.Kliem (Hanover-Muenden, Germany), N.A.Kolesnik (Kiev, Ukraine), O.B.Kuzmin (Orenburg, Russia), B.G.Lukichev (St.Petersburg, Russia), O.A.Nagibovich (St.Petersburg, Russia), Yu.V.Natochin (St.Petersburg, Russia), D.N.Paskalev (Varna, Bulgaria), N.N.Smirnova (St.Petersburg, Russia), E.V.Sokolovsky (St.Petersburg, Russia), V.N.Tkachuk (St.Petersburg, Russia), N.A.Tomilina (Moscow, Russia), D.Tsakiris (Thessaloniki, Greece), A.F.Yampolsky (Krasnodar, Russia)

Director of enlightening non-commercial
independent organisation «Nephrology»

A.G.KUCHER

Volume 13 • № 1 • 2009

ИЗДАТЕЛЬСТВО СПбГМУ
ИЗДАТЕЛЬСТВО «ЛЕВША»
ST.PETERSBURG • 2009

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

В.А.Добронравов, И.Г.Каюков

Редакционная коллегия

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

Ответственный секретарь

И.И.Трофименко

Зав. редакцией

А.И.Куликова

Редакционный совет

А.И.Гоженко (Одесса, Украина), К.Я.Гуревич (Санкт-Петербург, Россия), М.Д.Дидур (Санкт-Петербург, Россия), Т.В.Жданова (Екатеринбург, Россия), Д.Д.Иванов (Киев, Украина), А.Ж.Карабаева (Алма-Ата, Казахстан), Ф.Клим (Гановер-Мюнден, Германия), Н.А.Колесник (Киев, Украина), О.Б.Кузьмин (Оренбург, Россия), Б.Г.Лукичев (Санкт-Петербург, Россия), О.А.Нагибович (Санкт-Петербург, Россия), Ю.В.Наточин (Санкт-Петербург, Россия), Д.Н.Паскалев (Варна, Болгария), Н.Н.Смирнова (Санкт-Петербург, Россия), Е.В.Соколовский (Санкт-Петербург, Россия), Д.Тзакирис (Фессалоники, Греция), В.Н.Ткачук (Санкт-Петербург, Россия), Н.А.Томилина (Москва, Россия), А.Ф.Ямпольский (Краснодар, Россия)

Директор просветительской автономной
некоммерческой организации «Нефрология»

А.Г.КУЧЕР

ИЗДАТЕЛЬСТВО СПбГМУ
ИЗДАТЕЛЬСТВО «ЛЕВША»
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ • 2009

Том 13 • № 1 • 2009

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 пользоваться 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

Корректор Л.В.Ворченко
Переводчик Н.С.Медведева
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 23.01.2009. Подписан в печать 06.03.2009. 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
E-mail: journal@nephrolog.ru; интернет-сайт: <http://journal.nephrolog.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, 2009

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.

**Всероссийский конгресс нефрологов
29 сентября – 3 октября 2009 г., Санкт-Петербург**

**III Международный семинар последипломного обучения
«Актуальные вопросы нефрологии и диализа»
2 октября – 3 октября 2009 г., Санкт-Петербург**



Организаторы:

*Научное общество нефрологов России
ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский
университет им. акад. И.П.Павлова»
Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И.М. Сеченова РАН
Некоммерческая просветительская организация «Нефрология»
ГОУ ВПО «Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова»
Северо-Западная Ассоциация нефрологов и врачей диализа
Творческое объединение детских нефрологов*

Глубокоуважаемые коллеги!

Выражаю Вам свое почтение и имею честь сообщить, что 29 сентября – 3 октября в Санкт-Петербурге состоится Всероссийский конгресс нефрологов. В рамках Конгресса пройдет III Международный семинар последипломного обучения «Актуальные вопросы нефрологии и диализа» (2-3 октября 2009 г.).

На Конгрессе и Семинаре будут представлены сообщения ведущих отечественных и зарубежных специалистов по важнейшим направлениям современной нефрологии, включая проблемы патологии почек у детей.

Участники Конгресса и Семинара получают соответствующий сертификат.

Тезисы материалов Конгресса будут опубликованы в одном из номеров журнала «Нефрология».

Более подробно с информацией о программе проведения Конгресса и Семинара, порядке направления тезисов и регистрации Вы можете ознакомиться в прилагаемом Информационном письме №1, а также на сайте Конгресса: <http://nc.spbgmu.org>.

Надеюсь на встречу в Санкт-Петербурге.

Вице-президент Научного Общества
Нефрологов России,
директор НИИ Нефрологии
СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова,
доктор медицинских наук, профессор

А. В. СМЕРНОВ

197101 Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого 17, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова, НИИ нефрологии
Телефоны: (812)-234-01-65; Факс: (812)-234-65-30
Электронная почта: org@spbgmu.org
Интернет-сайт: <http://nc.spbgmu.org>

Всероссийский конгресс нефрологов
29 сентября – 3 октября 2009 г.,
г. Санкт-Петербург
III Международный семинар последиplomного обучения
«Актуальные вопросы нефрологии и диализа»
2 октября – 3 октября 2009 г.,
г. Санкт-Петербург

Информационное письмо №1

Организаторы мероприятия

- Научное общество нефрологов России;
- ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации»;
- Институт эволюционной физиологии и биохимии РАН им. И.М.Сеченова;
- АНО «Нефрология»;
- ГОУ ВПО «Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации»;
- Санкт-Петербургский научный центр РАН;
- Северо-Западная ассоциация нефрологов и врачей диализа;
- Творческое объединение детских нефрологов.

При участии

- Европейской почечной ассоциации – Европейской ассоциации диализа и трансплантации (ERA-EDTA);
- Международного общества нефрологов (ISN).

Основная тематика Конгресса:

1. Проблемы диагностики, лечения и профилактики хронической болезни почек (ХБП).
2. Болезни почек: диагностика, лечение.
3. Острое повреждение почек.
4. Современные достижения и перспективные технологии заместительной почечной терапии.
5. Трансплантация почек.
6. Проблемы детской нефрологии.

Научную программу Конгресса мы представим Вам в следующем Информационном письме, а с рабочей версией программы Международного семинара последиplomного образования Вы можете ознакомиться в Приложении № 1.

Тезисы Конгресса будут опубликованы **бесплатно** в журнале «Нефрология» №3 за 2009 г. С правилами оформления тезисов можно ознакомиться в Приложении № 3 и на сайте Конгресса: **nc.spbgmu.org**. Оргкомитет принимает тезисы до 1 июня 2009 г.

Место проведения Конгресса и регистрация

Конгресс пройдет в пансионатах «Балтиец»*** (г. Санкт-Петербург, пос. Репино, Приморское шоссе, 427) и «Буревестник»** (г. Санкт-Петербург, пос. Репино, ул. Луговая, 8).

Регистрация участников будет производиться:

- 28 сентября 2009 г. с 18.00 до 20.00 на 1-м этаже пансионата «Балтиец» (перед Reception)
- 29 сентября 2009 г. с 10.00 до 12.00 на 1-м этаже пансионата «Буревестник»

Начало первого заседания 29 сентября 2009 г. в 12 час. 00 мин.

Для участия в Конгрессе необходимо:

1. заполнить анкету участника
 - заполненную **анкету** участника (см. Приложение № 2) необходимо отправить в адрес Оргкомитета по почте, по ФАКСу или по электронной почте **org@spbgmu.org** до 1 сентября 2009 года. Анкету можно также заполнить в режиме “on line”- на сайте Конгресса: **nc.spbgmu.org**

2. Заплатить Организационный взнос участника Конгресса.

Размер Организационного взноса

	До 01.06.2009	После 01.06.2009
Участники Конгресса (без льгот)	800 рублей	1800 рублей
Участники Конгресса (льготные категории*)	300 рублей	800 рублей

*Льготы по оплате Организационного взноса предоставляются врачам-интернам, клиническим ординаторам, аспирантам и студентам (при предъявлении соответствующего удостоверения).

При оплате организационного взноса Вы получаете папку участника с материалами Конгресса, приспособление для трансляции синхронного перевода и бейдж. **Бейдж** является пропуском на все мероприятия Конгресса и торжественный фуршет. От оплаты Организационного взноса освобождаются члены Северо-Западной ассоциации нефрологов и врачей диализа, заплатившие взнос за 2009г. и погасившие задолженность за 2008 г., а также подписчики журнала «Нефрология» (при предъявлении годового подписного свидетельства за 2009 и 2010 годы).

В ходе регистрации будет предоставлена возможность годовой подписки на журнал «Нефрология» на 2010 год.

Официальный язык Конгресса – русский, официальные языки Международного Семинара – английский и русский.
Зал заседаний Международного семинара последипломного обучения будет обеспечен оборудованием для синхронного перевода докладов.

Оплата участия в конгрессе

Оплата участия в Конгрессе производится следующим образом:

1. Организационный взнос может быть перечислен на расчетный счет Генерального сервис-агента Конгресса в любом отделении Сбербанка России (банковские реквизиты представлены в Приложении №5).

Юридическим лицам предварительно необходимо заключить с сервис-агентом Договор, для чего необходимо выслать в адрес последнего (электронной почтой или факсом) реквизиты организации:

- юридический и фактический адрес;
- Ф.И.О. и должность руководителя, на основании чего действует;
- банковские реквизиты;
- адрес электронной почты;
- телефон и Ф.И.О. контактного лица.

2. Организационный взнос принимается наличными на месте в процессе регистрации в соответствии с представленными выше расценками.

Оргкомитет Конгресса настоятельно рекомендует произвести оплату регистрационного взноса заранее.

В случае отказа от участия в работе Конгресса или неявки на Конгресс внесенный заранее Организационный взнос не возвращается.

Размещение участников Конгресса

Проживание участников Конгресса будет организовано в пансионатах «Балтиец»*** (г. Санкт-Петербург, пос. Репино, Приморское шоссе, 427) и «Буревестник»** (г. Санкт-Петербург, пос. Репино, ул. Луговая, 8), расположенных на одной территории. Для предварительного бронирования номера в приложениях №4 и №5 представлены форма заявки, цены, а также образец квитанции.

Заполненную заявку на размещение необходимо отправить до 1 июля 2009 года в адрес генерального сервис-агента Конгресса по одному из факсов (812) 740-74-62, (812) 293-99-10 или по электронной почте amc@amcorg.spb.ru amc@amcorg.ru

В Приложении №4 представлены цены на пакеты услуг для участников. Приобретение пакета гарантирует Вам наиболее экономичный вариант участия в Конгрессе.

Оргкомитет гарантирует, что в случае предварительной оплаты проживания, цена предлагаемого пакета останется неизменной.

Если Вы хотите приехать (уехать) раньше или позднее начала (окончания) конгресса, свяжитесь с генеральным сервис-агентом конгресса компанией ООО «Академический медицинский центр» по телефонам (812) 740-74-62 или (812) 293-99-10, а также по электронной почте amc@amcorg.spb.ru, amc@amcorg.ru, и Вам подберут подходящий вариант размещения. Кроме того, Вы можете выбрать другой вариант размещения самостоятельно или на сайте www.amcorg.ru.

Пришлите копию оплаченной квитанции и заявку на размещение (Приложение № 4) по одному из факсов (812) 740-74-62, (812) 293-99-10 или по электронной почте amc@amcorg.spb.ru, amc@amcorg.ru После этого Вам будет выслано подтверждение о бронировании.

Транспорт

До пансионатов «Балтиец» и Буревестник» можно доехать:

1. От Финляндского вокзала:
 - маршрутное такси № 400
 - электропоезд до станции «Репино».
2. От ст. метро «Старая деревня»:
 - маршрутное такси № 305 (остановка «Пансионат Балтиец»)
3. От ст. метро «Проспект Просвещения»:
 - маршрутное такси № 680 (остановка «Пансионат Балтиец»)
4. От ст. метро «Черная речка»
 - автобус № 211 (остановка «Пансионат Балтиец»)

Участники Конгресса из Санкт-Петербурга смогут воспользоваться специальным автобусом, который доставит их в пансионат «Балтиец» от станции метро «Черная речка» (сбор в 8³⁰).

Бронированием билетов на междугородный транспорт организаторы Конгресса не занимаются.

Адреса и телефоны

По всем интересующим Вас вопросам просим обращаться по следующим адресам

НИИ нефрологии:

197101, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, дом 17, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П.Павлова, НИИ Нефрологии, Ковалева Татьяна Анатольевна.

Телефоны: (812) 234-01-65 с 10 до 15 часов с понедельника по пятницу.

Факс: (812)-234-65-30 (круглосуточно)

Электронная почта: org@spbgbmu.org

Сайт Конгресса в интернете: nc.spbgbmu.org

Генеральный сервис-агент Конгресса:

ООО «Академический медицинский центр» (Все вопросы касающиеся проживания, питания, регистрации и культурной программы):

194017, Санкт-Петербург, пр.Мориса Тореза, д.98/1, офис 211

Телефоны/факсы: (812) 740-74-62, (812) 293-99-10

Электронная почта: amc@amcorg.ru; amc@amcorg.spb.ru; amcorg@yandex.ru

Сайт в интернете: www.amcorg.ru

Приложение №1

**Рабочий вариант научной программы
III Международного семинара последипломного обучения
«Актуальные вопросы нефрологии и диализа»
2 – 3 октября 2009 г., г. Санкт-Петербург**

<i>2 октября 2009 г.</i>	
Риц Эберхард (Германия)	Почка и гипертензия – причины и лечение
Флёге Юрген (Германия)	Современные представления о гломерулонефрите
Де Гроот Кирстен (Германия)	АНЦА-положительные васкулиты
Нойман Клаус-Хайнрих (Германия)	Волчаночный нефрит
Олбрихт Кристоф-Йоахим (Германия)	Амилоидоз почек
Грооп Пер-Хенрик (Финляндия)	Диабетическая нефропатия
Смирнов Алексей Владимирович (Россия)	Почки и беременность
Добронравов Владимир Александрович (Россия)	Гемолитико-уремический синдром и тромботическая тромбоцитопеническая пурпура
<i>3 октября 2009 г.</i>	
Риц Эберхард (Германия)	Метаболизм кальция и фосфатов при ХБП – каковы последние данные?
Флизер Данило (Германия)	Стволовые клетки при заболеваниях почек
Килштайн Ян (Германия)	Непрерывные (продолжительные) методы заместительной почечной терапии
Коннер Клаус (Германия)	Сосудистый доступ для проведения диализа
Критер Дэтлеф (Германия)	Диализные мембраны
Шлит Ганс-Юрген (Германия)	Иммунология почечного трансплантата
Эрих Йохан (Германия)	Трансплантация почек у детей
Нойман Кристина (Германия)	Заболевания кожи при терминальной почечной недостаточности

Приложение №2

АНКЕТА УЧАСТНИКА

**Всероссийского конгресса нефрологов (29 сентября–3 октября 2009 г.)
и III Международного семинара последипломного обучения
«Актуальные вопросы нефрологии и диализа» (2 – 3 октября 2009 г.)
Санкт-Петербург**

<i>Личные данные</i>	
Фамилия	
Имя	
Отчество	
Ученая степень	
Ученое звание	
Место работы	
Должность	
<i>Контактная информация</i>	
Страна	
Почтовый индекс (обязательно)	
Край, область	
Город	
Адрес для корреспонденции	
Рабочий телефон	()
Домашний телефон	()
Электронная почта	

Приложение №3

Требования к оформлению тезисов

Текст тезисов может быть введен только после регистрации на соответствующей странице сайта pc.spbgmu@org.

Общий объем тезисов не должен превышать 2500 знаков, учитывая пробелы.

Тезисы должны иметь следующую структуру:

- цель исследования,
- пациенты и методы (материалы и методы – для экспериментальных работ),
- результаты и обсуждение,
- выводы,
- ключевые слова.

При написании тезисов следует обратить внимание на следующее:

- название препаратов приводить в соответствии с международной номенклатурой со строчной буквы на русском языке; не использовать торговые названия;
- в десятичных числах для обозначения разрядов использовать не точки, а запятые (0,5 или 25,45 и т.д.);
- не оставлять пробел перед знаком процентов (10%, а не 10 %), перед и после дефиса (лучше-хуже, а не лучше – хуже), перед и после знаков > или < ($p < 0,05$ а не $p < 0,05$), перед и после $\pm$ (5 ± 1 , а не 5 ± 1);
- фактические данные представлять в абсолютных значениях (10 больных, возраст больных 25-55 лет) или в процентах (15% больных);
- размещать в тезисах не более 1 таблицы, рисунки, графики не принимаются;
- использовать только стандартные сокращения (аббревиатуры);
- не применять сокращения в названии тезисов. Полный термин, вместо которого вводится сокращение, должен предшествовать первому применению этого сокращения в тексте. Например: «Вводя концепцию хронической болезни почек (ХБП), эксперты рабочей группы преследовали ряд целей». «Взаимосвязь между ожирением, гиперлипотеидемией (ГЛП) и степенью тяжести заболевания коронарных артерий».

Все тезисы будут проходить научное рецензирование. Оргкомитет оставляет за собой право отказа в публикации материалов без дополнительного оповещения авторов.

В заголовке тезисов должны быть указаны инициалы и фамилии авторов (шрифт полужирный), название (заглавными буквами), страна (курсивом), город (курсивом), название учреждения без сокращений (курсивом).

Образец:

И.И. Петров, Н.А.Иванов, В.Д. Сидоров

НЕФРОПРОТЕКТИВНАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ ВОЛЧАНОЧНОМ НЕФРИТЕ

Россия, Москва, Медицинская академия им. И.М.Сеченова

Приложение №4

ЗАЯВКА

ФИО _____

Дата приезда _____ **Время приезда** _____

Дата отъезда _____ **Время отъезда** _____

Телефон для связи _____

E-mail для связи _____

Тип размещения/пансионат	Балтиец***	Буревестник**
Место в 2-х местном номере – 5 ночей	Пакет №1 420 EUR	Пакет №2 290 EUR
Одноместный номер - 5 ночей	Пакет №3 660 EUR	Пакет №4 395 EUR
Место в 2-х местном номере – 4 ночи	Пакет №5 345 EUR	Пакет №6 265 EUR
Одноместный номер - 4 ночи	Пакет №7 530 EUR	Пакет №8 330 EUR
Место в 2-х местном номере – 3 ночи	Пакет №9 290 EUR	Пакет №10 240 EUR
Одноместный номер - 3 ночи	Пакет №11 400 EUR	Пакет №12 265 EUR

В стоимость пакетов входит:

1. Проживание в номерах выбранной категории (заезд после 18.00, выезд до 18.00).
 2. Трехразовое питание (завтрак, обед, ужин).
- Не предусмотрен ужин в день заезда (28.09.09) и день отъезда (03.10.09).

3. Праздничный фуршет 29.09.09 (вместо ужина в этот день).
 4. Регистрационный взнос участника конгресса, который включает в себя папку с материалами конгресса; бейдж, являющийся пропуском на все заседания и выставку.
 5. Экскурсию «Вечерний Петербург» 30.09.09.
 6. В стоимость пакета входит НДС 18 %, оплата производится **в рублях** по курсу ЦБ РФ на день платежа.
- Балтиец ***** – более комфортабельный отель с улучшенными категориями номеров, уровень сервиса соответствует трём звёздам с питанием «шведский стол».
- Буревестник **** – отель менее комфортабельный с категориями номеров без ремонта, питание по меню.
- Лица, освобожденные от оплаты регистрационного взноса, должны уменьшить сумму выбранного Пакета на 800 рублей.
 - Лица, имеющие льготы по оплате регистрационного взноса, должны уменьшить сумму выбранного пакета на 500 рублей.

Приложение №5

Банковские реквизиты сервис-агента ООО «АМЦ» для осуществления платежей:

ООО «Академический Медицинский Центр» ИНН 7816197964 КПП 781601001 Р/с 40702810300300003192 в ОАО Банке “Александровский” г.Санкт-Петербург к/с 30101810000000000755 БИК 044030755 Назначение платежа: За участие в конгрессе нефрологов, пакет № ____ за Ф.И.О. _____, в т.ч. НДС 18%.

Заполните, пожалуйста, заявку и вышлите генеральному сервис-агенту ООО «Академический Медицинский Центр» по электронной почте:

amc@amcorg.spb.ru;
amc@amcorg.ru;
amcorg@yandex.ru

или по тел./факсу: +7 (812) 740-74-62
+7 (812) 293-99-10

Опытные сотрудники ООО «Академический медицинский центр» готовы ответить на все ваши вопросы.

Добро пожаловать в Санкт-Петербург!

**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМ.АКАД. И.П.ПАВЛОВА**

**ФАКУЛЬТЕТ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБУЧЕНИЯ
КАФЕДРА НЕФРОЛОГИИ И ДИАЛИЗА**

План циклов на 2009 г.

Название цикла	Сроки проведения	Контингент	Сертификат
1. ТУ «Клиническая нефрология и диализ»	19.01 – 28.02 2009 г.	Врачи нефрологических и диализных отделений,	Подготовка и прием экзамена на подтверждение сертификата специалиста (для нефрологов и врачей отделений диализа)
2. ПП «Нефрология»	19.01 – 25.04 2009 г.	Врачи нефрологических и диализных отделений, терапевты, анестезиологи	Специализация по нефрологии с выдачей сертификата
3. Избранные вопросы терапии с основами нефрологии	19.01 – 14.02 2009 г.	Участковые врачи, врачи общей практики, врачи скорой помощи, врачи терапевтических отделений	Подготовка и прием экзамена на подтверждение сертификата специалиста по терапии и нефрологии (для нефрологов и терапевтов)
4. ТУ «Клиническая нефрология и диализ»	16.03 – 25.04 2009 г.	Врачи нефрологических и диализных отделений,	Подготовка и прием экзамена на подтверждение сертификата специалиста (для нефрологов и врачей отделений диализа)
5. ПП «Нефрология»	16.03 – 20.06 2009 г.	Врачи нефрологических и диализных отделений, терапевты, анестезиологи	Специализация по нефрологии с выдачей сертификата
6. Избранные вопросы терапии с основами нефрологии	16.03 – 11.04 2009 г.	Участковые врачи, врачи общей практики, врачи скорой помощи, врачи терапевтических отделений	Подготовка и прием экзамена на подтверждение сертификата специалиста по терапии и нефрологии (для нефрологов и терапевтов)
7. Сестринское дело в нефрологии и диализе	18.05 – 06.06 2009 г.	Медицинские сестры отделений нефрологии, диализа, ОИТ	Подготовка и прием экзамена на подтверждение сертификата специалиста (медицинских сестер отделений нефрологии и диализа)

8. ТУ «Клиническая нефрология и диализ»	21.09 – 31.10 2009 г.	Врачи нефрологических и диализных отделений,	<i>Подготовка и прием экзамена на подтверждение сертификата специалиста (для нефрологов и врачей отделений диализа)</i>
9. ПП «Нефрология»	21.09 – 26.12 2009 г.	Врачи нефрологических и диализных отделений, терапевты, анестезиологи	<i>Специализация по нефрологии с выдачей сертификата</i>
10. Избранные вопросы терапии с основами нефрологии	21.09 – 17.10 2009 г.	Участковые врачи, врачи общей практики, врачи скорой помощи, врачи терапевтических отделений	<i>Подготовка и прием экзамена на подтверждение сертификата специалиста по терапии и нефрологии (для нефрологов и терапевтов)</i>
11. Сестринское дело в нефрологии и диализе	30.11 – 19.12 2009 г.	Медицинские сестры отделений нефрологии и диализа	<i>Подготовка и прием экзамена на подтверждение сертификата специалиста (медицинских сестер отделений нефрологии и диализа)</i>

Обучение на циклах для сотрудников государственных и муниципальных учреждений бесплатное.

Кафедра проводит выездные циклы (с подтверждением сертификатов терапевта или нефролога) по заявкам администрации учреждений здравоохранения

Кафедра проводит индивидуальные курсы повышения квалификации:

- ПП «Нефрология» (первичная специализация, 504 часа)
- ТУ «Биопсия почки: техника проведения» (144 часа)
- ТУ «Функциональные методы обследования в нефрологии» (для нефрологов и врачей-лаборантов, 144 часа)

Заявки на путевки просим присылать по адресу:

197089, Санкт-Петербург, ул. Л.Толстого, 17,
кафедра нефрологии и диализа

Зав. кафедрой – профессор **Есаян Ашот Мовсесович**

Тел/факс: 812 234 9191

E-mail: esaian@spmu.rssi.ru

Профессор кафедры – **Каюков Иван Глебович**

Тел.: 812 346 3926

E-mail: kaukov@nephrolog.ru

Зав. учебной частью – **Васильев Александр Николаевич**

Тел.: 812 234 5736

Деканат факультета последипломного обучения, тел.: 812 499 7109

ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ

СМИРНОВ А.В., СМОРНОВ К.А.
Проренин и ренин – новые мишени для рено-
и кардиопротективной терапии

ФЛЮГЕ Г., ЭЙТНЕР Ф.
Иммуномодулирующая терапия при IgA-нефропатии –
обоснование и факты

ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

СМИРНОВ А.В., ВОЛКОВ М.М., ДОБРОНРАВОВ В.А.
Кардиопротективные эффекты D-гормона у больных с
хронической болезнью почек: обзор литературы и
собственные данные

ЗВЕРЕВ Я.Ф., БРЮХАНОВ В.М., ЛАМПАТОВ В.В.,
ЖАРИКОВ А.Ю.
Современные представления о роли физико-
химических факторов в патогенезе кальциевого
нефролитиаза

ЯКОВЕНКО А.А., ЯКОВЛЕВ В.Д., АСАНИНА Ю.Ю.,
КУЧЕР А.Г.
Роль хронического воспаления в патогенезе
«уремической недостаточности питания» у пациентов
с терминальной почечной недостаточностью,
получающих лечение хроническим гемодиализом

ЖАРИКОВ А.Ю., ЗВЕРЕВ Я.Ф., БРЮХАНОВ В.М.,
ЛАМПАТОВ В.В.
Современные представления о модуляторах оксалатного
нефролитиаза. I. Стимуляторы кристаллизации

**ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ
Клинические исследования**

СТАРОСТИНА В.И., СПЕРАНСКИЙ В.В., ВАЛИШИН Д.А.,
ЗАРИПОВА Р.М., ГОЛОВИН В.П.
Значение показателей системы атриальных
натрийуретических пептидов в патогенезе
геморрагической лихорадки с почечным синдромом

СИБИРЕВА О.Ф., ХИТРИНСКАЯ Е.Ю., КАЛЮЖИНА Е.В.,
ЗИБНИЦКАЯ Л.И., ТКАЛИЧ Л.М., БУХАРОВА Е.О.,
КАЛЮЖИН В.В.
Состояние антиоксидантного потенциала крови и
свободнорадикальное окисление липидов у больных
алкоголизмом, ассоциированным с поражением почек

СИЛЕНКО О.Н., КОЛЬЦОВА Т.В., САВЕНКОВА Н.Д.,
КУТУШЕВА Г.Ф.
Сочетанные микробно-воспалительные заболевания
органов мочевой и половой систем у юных беременных

**ЖУРНАЛ В ЖУРНАЛЕ
Актуальные проблемы урологии**

АЛЬ-ШУКРИ А.С., ДАНИЛЬЧЕНКО Д.И.
Диагностическая и прогностическая ценность
определения матрикс-металлопротеаз в моче у больных
раком мочевого пузыря

LEADING ARTICLE

SMIRNOV A.V., SMIRNOV K.A.
Prorenin and renin – new targets for reno-
and cardioprotective therapy

FLOEGE J., EITNER F.
Immunomodulating therapy in IgA-nephropathy –
definition and facts

REVIEWS AND LECTURES

SMIRNOV A.V., VOLKOV M.M., DOBRONRAVOV V.A.
Cardioprotective effects of D-hormone in patients with
chronic kidney disease: literature review and
personal data

ZVEREV Ya.Ph., BRUKHANOV V.M., LAMPATOV V.V.,
JARICOV A.Yu.
The current views on the role of physico-chemical
factors in pathogenesis of calcium nephrolithiasis

YAKOVENKO A.A., YAKOVLEV V.D., ASANINA Yu.Yu.,
KUCHER A.G.
The role of chronic inflammation in pathogenesis of
«uremic malnutrition» in chronic hemodialysis patients
with end stage renal disease

JARICOV A.Yu., ZVEREV Ya.F., BRUKHANOV V.M.,
LAMPATOV V.V.
The current conceptions about the modulators of the
oxalate nephrolithiasis. I. Stimulators of crystallization

**ORIGINAL ARTICLES
Clinical investigations**

STAROSTINA V.I., SPERANSKIY V.V., VALISHIN D.A.,
ZARIPOVA R.M., GOLOVIN V.P.
The values of the system of arterial natriuretic peptides
in pathogenesis of hemorrhagic fever with renal syndrome

SIBIREVA O.Ph., HITRINSKAYA E.Yu., KALUJINA E.V.,
ZIBNITSKAYA L.I., TKALICH L.M., BUHAROVA E.O.,
KALUJIN V.V.
The state of antioxidant blood potential and free radical
lipid oxidation in alcoholic patients,
with renal damage

SILENKO O.N., KOLTSOVA T.V., SAVENKOVA N.D.,
KUTUSHEVA G.F.
Combined microbe-inflammatory diseases of organs of
the urogenital system in pregnant adolescents

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

AL-SHUKRI A.S., DANILCHENKO D.I.
The diagnostic and prognostic value of the
determination of matrix-metalloproteas in the urine of
patients with urinary bladder cancer

ЗАВЬЯЛОВА Е.С., АЛЬ-ШУКРИ А.С., КОРНЕЕВ И.А.,
ЯГМУРОВ О.Д.

Роль антигенов Ki-67, p53 и bcl-2 в прогнозировании
клинического течения переходно-клеточного рака
мочевого пузыря

ТАНЧЕВА С., НЕНОВ К.

Химический состав конкрементов при хроническом
калькулезном пиелонефрите

ПРОГРАММА НЕПРЕРЫВНОГО ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ ПО НЕФРОЛОГИИ

КАЮКОВ И.Г., СМІРНОВ А.В., ШАБУНИН М.А.,
ЕСАЯН А.М., КУЧЕР А.Г., РЫСС Е.С., КИСИНА А.А.,
ЩЕРБАК Л.А., НИКОГОСЯН Ю.А., КУКОЛЕВА Л.Н.

Редкие заболевания в практике «взрослого» нефролога:
состояния, ассоциированные с гипокалиемией.

Сообщение II. Синдром Лиддла

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ

ГЕОРГИЕВА М., ПАСКАЛЕВ Д.

Болгарский вклад в учение о пробиотиках:

Стамен Григоров и его знаменитое открытие
бактерии *Lactobacillus Bulgaricus*

90 ZAVIALOVA E.S., AL-SHUKRI A.S., KORNEEV I.A.,
YAGMUROV O.D.

The role of Ki-67, p53 and bcl-2 antigens in the
prognosis of clinical course of transitional cellular cancer
of the urinary bladder

95 TANCHEVA S., NENOV K.

The chemical components of the concrements in chronic
calculous pyelonephritis

PROGRAMME OF CONTINUOUS POSTGRADUATE EDUCATION ON NEPHROLOGY

98 KAUKOV I.G., SMIRNOV A.V., SHABUNIN M.A.,
ESAYAN A.M., KUCHER A.G., RISS E.S., KISINA A.A.,
SHERBAK L.A., NICOGOSIAN Yu.A., KUKOLEVA L.N.

Rarely diseases in the practice of «adult» nephrologist:
the state associated with hypokaliemia. Communication
II. Liddle syndrome

HISTORY OF MEDICINE

107 GEORGIEVA M., PASKALEV D.

Bulgarian participation in the probiotic study: Stamen
Grigorov and his famous discovery of *Lactobacillus*
Bulgaricus

© А.В.Смирнов, К.А.Смирнов, 2009
УДК 616.61+616.12]-08:616.12-008.331.1

А.В. Смирнов¹, К.А. Смирнов¹

ПРОРЕНИН И РЕНИН – НОВЫЕ МИШЕНИ ДЛЯ РЕНО- И КАРДИОПРОТЕКТИВНОЙ ТЕРАПИИ

A.V. Smirnov, K.A. Smirnov

PRORENIN AND RENIN – NEW TARGETS FOR RENO- AND CARDIOPROTECTIVE THERAPY

¹ Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени акад. И.П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

Имеющиеся на сегодняшний день экспериментальные данные дают основание предполагать, что в условиях блокады ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) и AT₁-рецепторов к ангиотензину II (A-II), проренин и ренин могут проявлять свою профибротическую активность, действуя через специфический проренин/рениновый (П/Р) рецептор. Профибротический эффект проренин/ренина, хотя и обнаружен в основном в почечной ткани, не может считаться изолированным патофизиологическим феноменом и П/Р могут связываться со специфическим рецептором на поверхности кардиомиоцита. В настоящее время проходит клинические испытания новый препарат, единственный представитель группы прямых ингибиторов ренина-алискирен (aliskiren), недавно одобренный комитетом FDA США в качестве препарата для лечения артериальной гипертензии. Однако до настоящего времени остается неясным вопрос, насколько клинически значимой окажется блокада (про) рениновых рецепторов в отношении развития почечного и сердечного фиброза. Предварительные данные клинических исследований алискирена обнадеживают: уровень микроальбуминурии в ходе его применения снижается на 61% по сравнению с 50% на фоне применения рамиприла. В настоящее время продолжаются два клинических исследования III фазы по оценке эффективности лечения алискиреном больных с хронической болезнью почек (ХБП): AVOID (Aliskiren in the Evaluation of Proteinuria in Diabetes) и AZTITUDE (Aliskiren Trial in Type 2 Diabetic Nephropathy). Результаты этих исследований должны дать новую информацию о влиянии терапии алискиреном на частоту и тяжесть осложнений диабета. Таким образом, открытие новых механизмов функционирования и значения ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, по-видимому, в скором будущем создаст новые предпосылки к совершенствованию рено- и кардиопротективной терапии.

Ключевые слова: ренин-ангиотензин-альдостероновая система, проренин, ренин, рецепторы ренина, алискирен.

ABSTRACT

The today experimental data give us a reason to propose that in the case of the block of angiotensin converting enzyme (ACE) and AT₁-receptors to angiotensin II (A-II), prorenin and renin can show their profibrotic activity, acting through a specific prorenin/renin receptor. The profibrotic effect of prorenin/renin, even though mostly is noticed in the renal tissue, can not be considered an isolated pathophysiological phenomena and P/R can connect with specific receptors on the surface of cardiomyocyte. At the present time take place clinical investigations of a new agent, which is the only representative of the direct inhibitors group of renin-aliskiren, which recently was approved by the FDA committee in USA as a medicine for arterial hypertension treatment. However, until present time it is not clear how much is the clinical significant is the blockade of (pro) renin receptors in accordance with the renal and cardiac fibrosis. The data of previous clinical investigations of aliskiren are very inspiring: the microalbumine level during its use decreases on 61% as compared with 50% during the ramipril intake. At present time take place two clinical investigations of the III phase on the evaluating the efficiency of aliskiren treatment in patients with chronic kidney disease (CKD): AVOID (Aliskiren in the Evaluation of Proteinuria in Diabetes) and AZTITUDE (Aliskiren Trial in Type 2 Diabetic Nephropathy). The results of these investigations should give new information on the therapy influence of aliskiren on the frequency and severity of diabetes. In such way, the opening of new mechanisms of functioning and meaning of renin – angiotensin- aldosterone system, probably shortly will have new ways of innovating reno- and cardioprotective therapy.

Key words: renin – angiotensin- aldosterone system, prorenin, renin, renin receptors, aliskiren.

Ренин-ангиотензиновая система (РАС), в соответствии с хорошо изученными механизмами, осуществляет важную роль в регуляции внеклеточного объема жидкости и артериального давления. Как

известно, главным эффектором всей системы является ангиотензин-II (А-II), который помимо прямых вазопрессорных свойств, ингибирует продукцию оксида азота, стимулирует выработку цитокинов, вызывает апоптоз клеток, способствует синтезу экстрацеллюлярного матрикса, проявляя тем самым профибротические свойства [1]. Об-

Смирнов А.В., 197022 Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого 17, НИИ Нефрологии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова; тел.: (812)-234-01-65, E-mail: smirnov@nephrolog.ru

разуясь в основном в тканях, а не в циркуляции [2, 3], А-II способствует формированию почечного [4, 5] и сердечного [6, 7] фиброза. В многочисленных клинических исследованиях была доказана эффективность применения ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (и-АПФ) и антагонистов AT_1 –рецепторов ($a-AT_1$) в замедлении темпов прогрессирования различных нефропатий [8] и в уменьшении процессов ремоделирования сердца и сосудов при артериальной гипертензии [26]. Указанные эффекты блокаторов РАС были положены в основу современной стратегии рено- и кардиопротекции [1, 8, 9]. Антифибротические свойства антагонистов РАС реализуются либо через уменьшение продукции и-АПФ, либо путем блокирования действия А-II ($a-AT_1$), который стимулирует синтез в тканях основного профибротического цитокина-трансформирующего фактора роста бета ($TGF-\beta_1$) [4, 5].

Вместе с тем, в клинических исследованиях было установлено, что применение и-АПФ и $a-AT_1$, или их сочетания не приводит к полной блокаде синтеза $TGF-\beta_1$, а поэтому способно, примерно, лишь на 50% замедлить прогрессирование почечного фиброза [10, 11]. Известно, что А-II, воздействуя на AT_1 рецепторы юкстагломерулярного аппарата почки, ингибирует синтез и секрецию ренина [12]. И, напротив, блокада синтеза А-II (и-АПФ) или его действия ($a-AT_1$) приводит к возрастанию секреции ренина в почке и к увеличению его концентрации в плазме крови [13]. Одновременно с увеличением концентрации ренина в плазме крови, возрастает уровень его неактивного предшественника проренина [14]. Исследователи давно уже полагали, что увеличение концентраций ренина и проренина в крови должно иметь какой-то дополнительный физиологический смысл, помимо известного участия ренина в активации РАС. Тем более, что у больных с сахарным диабетом, осложненным ретино- и нефропатией, концентрация проренина в плазме крови была непропорционально высокой по отношению к уровню ренина [15]. Тот факт, что нарастание концентрации проренина плазмы крови у больных с сахарным диабетом было отмечено еще до появления микроальбуминурии, позволил некоторым исследователям говорить о его предикторной роли в отношении органических осложнений при диабете [16]. Обнаружение внутриклеточного ренин-связывающего белка [17] и рецептора II типа маннозы-6-фосфат/инсулин-подобного фактора роста (MGP/IGFIR) [18], которые связывали циркулирующие проренин/ренин не разрешило проблемы, поскольку в последствие было установлено, что данные белки осуществля-

ют простую клиренсовую функцию по отношению к (про) ренину [19]. В 1996 году G. Nguyen и соавт. [20] открыли специфический рецептор на цитоплазматической мембране мезангиальных клеток, который связывал циркулирующий проренин и ренин. Рецептор клонировали и была установлена его структура, представляющая собой протеин, состоящий из 350 аминокислот и имеющий один трансмембранный домен [21]. С момента открытия специфического рецептора к (про) ренину было отмечено, что связывание с ним ренина приводит к стимуляции пролиферации мезангиальных клеток и к увеличению местной продукции ингибитора активатора плазминогена первого типа (PAI-1), причем данный эффект не был связан с протеолитической активностью ренина и не сопровождался генерацией А-II [20]. Позднее Y. Huang и соавт. [22] установили, что связывание рекомбинантного человеческого ренина со специфическим рецептором на поверхности клеточной мембраны мезангиальных клеток человека приводит также к увеличению продукции профибротического цитокина $TGF-\beta_1$. Эффект был дозозависимым, а уровень синтеза $TGF-\beta_1$ оставался неизменным при воздействии специфического ингибитора протеолитической активности ренина (RO 42-5892) или после добавления в среду и-АПФ (эналаприла) или $a-AT_1$ (лозартана). Таким образом, полученные данные свидетельствовали о том, что увеличение синтеза $TGF-\beta_1$ мезангиальными клетками после связывания ренина со специфическим рецептором на клеточном уровне не зависело от уровня протеолитической активности ренина или от концентрации А-II в культуральной среде. Связывание ренина с рецептором сопровождалось также увеличением концентрации в среде PAI-1, фибронектина и коллагена I типа, причем нейтрализующие антитела к $TGF-\beta_1$ блокировали данный эффект. Авторы впервые в научной литературе сделали вывод о том, что специфическое связывание ренина с рецептором, расположенным на клеточной мембране мезангиоцитов, приводит к увеличению клеточного синтеза $TGF-\beta_1$, который в свою очередь инициирует продукцию PAI-1, фибронектина и коллагена I типа. В исследованиях J.J. Saris и соавт. [23] была установлена возможность связывания ренина со специфическим рецептором на цитоплазматической мембране кардиомиоцитов, в результате которого происходила активация митоген-активируемой протеинкиназы p38 с одновременным фосфорилированием теплового шокового протеина 27 (HSP27). Как известно, тепловой шоковый протеин 27 (HSP27), будучи задействованным в синтезе внутриклеточных актиновых

филаментов, опосредует такие функции, как выживаемость клеток, их подвижность и рост [24]. Увеличение синтеза TGF- β_1 мезангиальными клетками после связывания ренина с клеточным рецептором, по всей видимости, также связано с активацией митоген-активируемой протеинкиназы p 42/44 [22, 26]. С учетом современных данных, есть основания полагать, что связывание проренина со специфическим рецептором на клеточной мембране, может способствовать проявлению ферментативной активности у проренина, вследствие его конформационных изменений, обусловленных ацидификацией внутриклеточной среды. Объясняется это тем, что один из фрагментов ренинового рецептора с массой 8,9 Кда (M8-9) обладает способностью кооперации с вакуольной протон-аденозинтрифосфатазой (v-АТФаза), активация которой таким образом, способствует закислению внутриклеточной среды. Снижение pH и температуры неэнзиматическим, а конформационным путем может активировать проренин, придавая ему функции нативного ренина. [26]. При экспериментальном диабете у крыс, введение специфического белка, связывающегося с проренином и инактивирующего его, предупреждает развитие диабетической нефропатии, нормализует содержание А-II в почечной ткани [27]. Изложенные факты заставляют по-новому взглянуть на функционирование всей РАС в целом. Известно, что концентрация проренина в плазме крови у здоровых людей составляет от 70 до 90% всей активности ренина, а у больных СД достигает 95% [28]. Возможные эффекты, возникающие в результате связывания проренина/ренина со специфическим рецептором на поверхности клетки приведены на рисунке.

В настоящее время наиболее эффективной ренопротективной схемой терапии, по-видимому, следует считать комбинацию и-АПФ и а-АТ₁, которая приводит к уменьшению протеинурии, замедлению прогрессии ХБП в большей степени, чем применение каждого из медикаментов в отдельности [29]. Однако, данная комбинация препаратов не лишена побочных эффектов и осложнений, особенно у пожилых людей, у пациентов с гиповолемией, принимающих нестероидные противовоспалительные препараты, у лиц со стенозом почечной артерии [30]. Комбинированная терапия, особенно у лиц с сердечной недостаточностью и/или

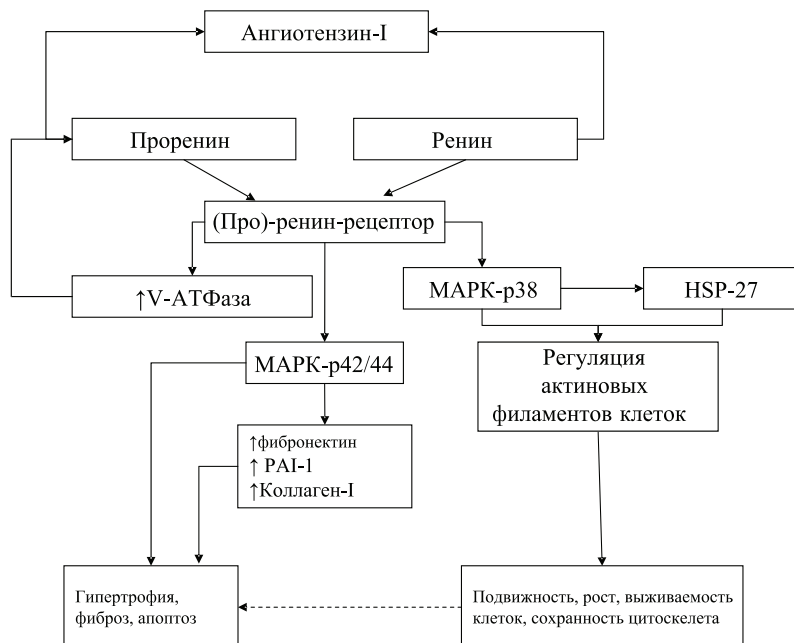


Рисунок. Возможные эффекты активации проренин/ренин-рецептора. MAPK – митоген-активируемая протеиназа; HSP27 – тепловой шоковый протеин 27; V-АТФаза – вакуольная протон-аденозинтрифосфатаза; AI-1 – ингибитор активатора плазминогена первого типа.

со сниженной СКФ (<35 мл/мин) сопровождается большей частотой побочных эффектов в виде эпизодов гипотензии, острой почечной недостаточности, гиперкалиемии [31, 32]. С другой стороны, применение и-АПФ и/или а-АТ₁, вследствие нарушения механизма обратной связи, сопровождается нарастанием концентраций ренина и проренина плазмы крови [29]. При экспериментальном стенозе почечной артерии, концентрация ренина в почечной ткани и экспрессия рецепторов к нему на стороне поражения возрастает, а тубуло-интерстициальный склероз прогрессирует, несмотря на эффективный контроль уровня АД, достигаемый с помощью и-АПФ и/или а-АТ₁ [33, 34]. Применение и-АПФ у экспериментальных животных с нефротическим синдромом, хотя и сопровождается уменьшением протеинурии и гломерулосклероза, однако не препятствует прогрессированию тубуло-интерстициального склероза [35]. Имеющиеся на сегодняшний день экспериментальные данные дают основание предполагать, что в условиях блокады АПФ и АТ₁-рецепторов к А-II, проренин и ренин могут проявлять свою профибротическую активность, действуя через специфический проренин/рениновый рецептор. Профибротический эффект проренин/ренина, хотя и обнаружен в основном в почечной ткани (на примере мезангиальных клеток), не может считаться изолированным патофизиологическим феноменом. Так, например, в сердечной мышце даже при наличии изолированной (тканевой) ангиотензиновой системы, «...боль-

шая часть, а может быть даже весь ренин имеет почечное происхождение» [36], который, как уже говорилось выше, может связываться со специфическим рецептором на поверхности кардиомиоцита [23].

Несмотря на то, что в течение последних нескольких десятилетий были синтезированы различные блокаторы действия ренина, их низкая эффективность, отсутствие пероральных форм и высокая стоимость не позволили внедрить их в клиническую практику [37]. Единственной группой препаратов, способной уменьшить концентрацию ренина плазмы крови примерно на одну треть, остаются на сегодняшний день бета-блокаторы [38]. В настоящее время проходит клинические испытания новый препарат, единственный представитель группы прямых ингибиторов ренина-алискирен (aliskiren), недавно одобренный комитетом FDA США в качестве препарата для лечения артериальной гипертензии [37]. Очевидно, в недалеком будущем появятся и другие пероральные препараты-антагонисты и блокаторы действия ренина, которые в настоящее время проходят предклинические исследования [39]. Алискирен снижает концентрацию ренина, А-I и А-II в плазме крови [40], предупреждает подъем уровня ренина в крови в случае использования диуретиков, и-АПФ или а-АТ₁ [41], не приводит к накоплению субстанции Р или брадикинина, а поэтому применению алискирена не сопутствуют такие побочные эффекты, как кашель [37]. Длительность периода полужизни препарата позволяет назначать его один раз в сутки [42]. После отмены алискирена, его концентрация в почечной ткани еще длительный период остается высокой, что подразумевает действие препарата на уровне тканей, что весьма важно в реализации его антифибротических свойств [43]. Алискирен может назначаться в качестве монотерапии, при этом его гипотензивный эффект в дозе 150 мг/сут эквивалентен приему ибесартана в той же дозе [44], а в дозе 300 мг/сут алискирен более эффективен, чем рамиприл (10 мг/сут) [45]. В литературе появились первые короткие сообщения о комбинациях, обладающих большим гипотензивным эффектом: алискирена с гидрохлортиазидом [46] и-АПФ [45], блокаторами кальциевых каналов [37] и антагонистами рецепторов к ангиотензину II [47]. Другим, важным обстоятельством применения ингибиторов ренина является предупреждение возникновения гиперальдостеронизма, наблюдаемого в случае использования и-АПФ или а-АТ₁. Установлено, что при начале терапии и-АПФ концентрация альдостерона в крови падает, вследствие снижения уровня А-II, однако при длительной те-

рапии содержание альдостерона в крови возвращается к прежним значениям и даже может превышать их [48]. Данное явление получило название феномена «ускользания альдостерона». Точный механизм его не установлен, но предполагается возможное влияние гиперкалиемии, сопутствующей терапии и-АПФ, а в случае применения а-АТ₁ гиперальдостеронизм может быть обусловлен стимуляцией АТ₂ рецепторов [48]. Альдостерон играет ключевую роль в возникновении эндотелиальной дисфункции, воспаления, протеинурии, почечного и сердечного фиброза [49, 50], что косвенно может указывать на рациональность использования блокаторов рецепторов альдостерона с кардио- и ренопротентивной целью. В настоящее время накапливаются клинические данные в отношении эффективности комбинации и-АПФ и/или а-АТ₁ с блокаторами альдостероновых рецепторов (спиронолактоном или эплереноном). Первые наблюдения говорят об эффективности подобного сочетания в отношении снижения протеинурии [51], однако неясными остаются вопросы в отношении замедления процессов развития почечного и сердечного фиброза. Кроме того, данная комбинация потенциально опасна в отношении возникновения клинически значимой гиперкалиемии, особенно у больных ХБП со сниженной СКФ [51]. Возможным выходом из ситуации могло бы стать применение алискирена как монотерапии или в комбинации с и-АПФ и/или а-АТ₁, так как его назначение сопровождается существенным падением концентрации альдостерона в плазме крови [40].

До настоящего времени остается неясным вопрос насколько клинически значимой окажется блокада (про) рениновых рецепторов в отношении развития почечного и сердечного фиброза. У трансгенных животных, обладающих человеческими генами ангиотензиногена и ренина, у которых отмечается развитие тяжелой гипертензии и необратимое поражение внутренних органов, применение алискирена приводит не только к нормализации артериального давления, но и к уменьшению альбуминурии и креатининемии [52]. Предварительные данные клинических исследований алискирена также обнадеживают: уровень микроальбуминурии в ходе его применения снижается на 61% по сравнению с 50% на фоне применения рамиприла [37]. В настоящее время продолжаются два клинических исследования III фазы по оценке эффективности лечения алискиреном больных с ХБП. Исследование AVOID (Aliskiren in the Evaluation of Proteinuria in Diabetes) включает 496 больных сахарным диабетом II типа с контролируемой гипертензией, которые получают терапию лозартаном в

комбинации с алискиреном. Конечной точкой исследования является оценка динамики протеинурии и отношения альбумин/креатинин. Второе исследование AZTITUDE (Aliskiren Trial in Type 2 Diabetic Nephropathy) включает 6000 больных с диабетической нефропатией, основной целью данного исследования является изучение влияния терапии алискиреном на частоту и тяжесть осложнений диабета [37].

Таким образом, открытие новых механизмов функционирования и значения ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, по-видимому, в скором будущем создаст новые предпосылки к совершенствованию рено- и кардиопротективной терапии.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ruster C, Wolf G. Renin-angiotensin-aldosterone system and progression of renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2985-2991
2. Danser AHJ. Local renin-angiotensin systems: the unanswered questions. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 759-768
3. van Kats JP, Schalekamp MADH, Verdouw PD et al. Intrarenal angiotensin II: interstitial and cellular levels and site of production. *Kidney Int* 2001; 60: 2311-2317
4. Border WA, Noble NA. Interaction of transforming growth factor- β and angiotensin II in renal fibrosis. *Hypertension* 1998; 31: 181-188
5. Gaedeke J, Peters H, Noble NA, Border WA. Angiotensin II, TGF- β and renal fibrosis. *Contrib Nephrol* 2001; 135: 153-160
6. Tokuda K, Kai H, Kuwahara F et al. Pressure-independent effects of angiotensin II on hypertensive myocardial fibrosis. *Hypertension* 2004; 43: 499-503
7. Weber KT. Fibrosis and hypertensive heart disease. *Curr Opin Cardiol* 2000; 15: 264-272
8. Jafar TH, Stark PC, Schmid CH et al. Progression of chronic kidney disease: the role of blood pressure control proteinuria and angiotensin-converting enzyme inhibition: a patient-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2003; 139: 244-252
9. Devereux RB, Dahlöf B, Gerds E et al. Regression of hypertensive left ventricular hypertrophy by losartan compared with atenolol: the Losartan Intervention for Endpoint Reduction in Hypertension (LIFE) trial. *Circulation* 2004; 110: 1456-1462
10. Peters H, Border WA, Noble NA. Targeting TGF- β overexpression in renal disease: maximizing the antifibrotic action of angiotensin II blockade. *Kidney Int* 1998; 54: 1570-1580
11. Border WA, Noble NA. Maximizing hemodynamic-independent effects of angiotensin II antagonists in fibrotic diseases. *Semin Nephrol* 2001; 21: 563-572
12. Kurtz A, Wagner C. Regulation of renin secretion by angiotensin II-AT $_1$ receptors. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10 (Suppl. 11): S162-S168
13. Azizi M, Bissery A, Lamarie-Cliche M, Menard J. Integrating drug pharmacokinetics for phenotyping individual renin response to angiotensin II blockade in humans. *Hypertension* 2004; 43: 785-790
14. Danser AHJ, Derckx FHM, Schalekamp MADH et al. Determination of interindividual variation of renin and prorenin concentrations: evidence for a sexual dimorphism of (pro)renin levels in humans. *J Hypertens* 1998; 16: 853-862
15. Luetscher JA, Kraemer FB, Wilson DM et al. Increased plasma inactive renin in diabetes mellitus. A marker of microvascular complications. *N Engl J Med* 1985; 312: 1412-1417
16. Deinum J, Ronn B, Mathiesen E et al. Increase in serum prorenin precedes onset of microalbuminuria in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia* 1999; 42: 1006-1010
17. Maru I, Ohta J, Murata K et al. Molecular cloning and identification of N-acetyl-D-glucosamine 2-epimerase from porcine kidney as a renin-binding protein. *J Biol Chem* 1996; 271: 16294-16299
18. van Kesteren CAM, Danser AHJ, Derckx FHM et al. Mannose 6-phosphate receptor-mediated internalization and activation of prorenin by cardiac cells. *Hypertension* 1997; 30: 1389-1396
19. Saris JJ, van den Eijnden MMED, Lamers JMJ et al. Prorenin-induced myocyte proliferation: no role for intracellular angiotensin II. *Hypertension* 2002; 39: 573-577
20. Nguyen G, Delarue F, Berron J et al. Specific receptor binding of renin on human mesangial cells in culture increases plasminogen activator inhibitor-1 antigen. *Kidney Int* 1996; 50: 1897-1903
21. Nguyen G, Delarue F, Burckle C et al. Pivotal role of the renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin. *J Clin Invest* 2002; 109: 1417-1427
22. Huang Y, Wongamorntham S, Kasting J et al. Renin increases mesangial cell transforming growth factor- β and matrix proteins through receptor-mediated, angiotensin II-independent mechanisms. *Kidney Int* 2006; 69: 105-113
23. Saris JJ, Hoen PAC, Garrelds IM et al. Prorenin induces intracellular signaling in cardiomyocytes independently of angiotensin II. *Hypertension* 2006; 48: 564-571
24. BurrIDGE K, Wennerberg K. Rho and Rac take center stage. *Cell* 2004; 116: 167-179
25. Huang Y, Noble NA, Zhang J et al. Renin-stimulated TGF- β expression is regulated by a mitogen-activated protein kinase in mesangial cells. *Kidney Int* 2007; 72: 45-52
26. Danser AHJ, Batenburg WW, van Esch JHM. Prorenin and the (pro)renin receptor—an update. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 1288-1292
27. Ichihara A, Hayashi M, Kaneshiro J et al. Inhibition of diabetic nephropathy by a decoy peptide corresponding to the "handle" region for nonproteolytic activation of prorenin. *J Clin Invest* 2004; 114: 1128-1135
28. Price DA, Porter ZE, Gordon M et al. The paradox of the low-renin state in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 2382-239
29. Wolf G, Ritz E. Combination therapy with ACE inhibitors and angiotensin II receptor blockers to halt progression of chronic renal disease: pathophysiology and indications. *Kidney Int* 2005; 67: 799-812
30. Azizi M, Menard J. Combined blockade of the renin-angiotensin system with angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II type I receptor antagonists. *Circulation* 2004; 109: 2492-2499
31. Mc Murray JJ, Ostergren J, Swedberg K et al. Effects of candesartan in patients with chronic heart failure and reduced left-ventricular systolic function taking angiotensin-converting-enzyme inhibitors: the CHARM-Added trial. *Lancet* 2003; 362: 767-771
32. Ruilope LM, Aldigier JC, Ponticelli C et al. Safety of the combination of valsartan and benazepril in patients with chronic renal disease: European Group for the Investigation of Valsartan in Chronic Renal Disease. *J Hypertens* 2000; 18: 89-95
33. Krebs C, Hamming I, Sadaghiani S et al. Antihypertensive therapy upregulates renin and (pro)renin receptor in the clipped kidney of Goldblatt hypertensive rats. *Kidney Int* 2007; 72: 725-730
34. Steinmetz OM, Sadaghiani S, Panzer U et al. Antihypertensive therapy induces compartment-specific chemokine expression and a Th 1 immune response in the clipped kidney of Goldblatt hypertensive rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292: F876-F887
35. Hamming I, Navis G, Kocks MJ, van Goor H. ACE inhibition has adverse renal effects during dietary sodium restriction in proteinuric and healthy rats. *J Pathol* 2006; 209: 129-139
36. Danser JAH, van Kats JP, Admiraal PJJ et al. Cardiac renin and angiotensins. Uptake from plasma versus in situ synthesis. *Hypertension* 1994; 24: 37-48
37. Segall L, Covic A, Goldsmith DJH. Direct renin inhibitors:

the dawn of a new era, or just a variation on a theme? *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 2435- 2439

38. Lindholm LH, Carlberg B, Samuelsson O. Should beta blockers remain first choice in the treatment of primary hypertension? A meta- analysis. *Lancet* 2005; 366: 1545-1553

39. Staessen JA, Li Y, Richart T. Oral renin inhibitors. *Lancet* 2006; 368: 1449- 1456

40. Nussberger J, Wuerzner G, Jensen C, Brunner HR. Angiotensin II suppression in humans by the orally active renin inhibitor aliskiren (SPP100). Comparison with enalapril. *Hypertension* 2002; 39: e1- e8

41. O'Brien E, Barton J, Nussberger J et al. Aliskiren reduces blood pressure and suppresses plasma renin activity in combination with a thiazide diuretic, an angiotensin- converting enzyme inhibitor, or an angiotensin receptor blocker. *Hypertension* 2007; 49 276- 284

42. Mitchell J, Oh B, Herron J et al. Once-daily aliskiren provides effective, smooth 24-hour blood pressure control in patients with hypertension. *J Clin Hypertens* 2006; 8 [5 Suppl. A]: A93 (P-209)

43. Feldman DL, Persohn E, Schutz H et al. Renal localization of the renin inhibitor aliskiren. *J Clin Hypertens* 2006; 8 [Suppl. A]: A80

44. Gradman AH, Schmieder RE, Lins RL et al. Aliskiren, a novel orally effective renin inhibitor, provides dose- dependent antihypertensive efficacy and placebo- like tolerability in hypertensive patients. *Circulation* 2005; 111: 1012- 1018

45. Uresin Y, Taylor A, Kilo C et al. Aliskiren, a novel renin inhibitor, has greater BP lowering than ramipril and additional BP lowering when combined with ramipril in patients with

diabetes and hypertension. *J Hypertens* 2006; 24 [Suppl. 4]: S82

46. Villamil A, Chrysant S, Calhoun D et al. The novel oral renin inhibitor aliskiren provides effective blood pressure control in patients with hypertension when used alone or in combination with hydrochlorothiazide. *J Clin Hypertens* 2006; 8 [Suppl. A]: A101

47. Pool JL, Schmieder RE, Azizi M et al. Aliskiren, an orally effective renin inhibitor, provides antihypertensive efficacy alone and in combination with valsartan. *Am J Hypertens* 2007; 20:11- 20

48. Bomback AS, Klemmer PhJ. The incidence and implications of aldosterone breakthrough. *Nature Clinical Practice Nephrology* 2007; 3: 486-491

49. Vecchio LD, Procacio M, Vigano S, Cusi D. Mechanism of Disease: the role of aldosterone in Kidney damage and clinical benefits of its blockade. *Nature Clinical Practice Nephrology* 2007; 3 : 42- 49

50. Nishiyama A, Abe Y. Molecular mechanisms and therapeutic strategies of chronic renal injury: renoprotective effects of aldosterone blockade. *J Pharmacol Sci* 2006; 100: 9- 16

51. Bianchi S, Bigazzi R, Campese VM. Long- term effects of spironolactone on proteinuria and kidney function in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int* 2006; 70: 2116- 2123

52. Shafiq MM, Menon DV, Victor RG. Oral direct renin inhibition: premise, promise, and potential limitations of a new antihypertensive drug. *Am J Med* 2008; 121:265-271

Поступила в редакцию 02.12.2008 г.

Принята в печать 10.02.2009 г.

© Г.Флюге, Ф.Эйтнер, 2009
УДК 616.61-002.17-08.37

Г. Флюге¹, Ф. Эйтнер¹

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ ТЕРАПИЯ ПРИ IgA-НЕФРОПАТИИ – ОБОСНОВАНИЕ И ФАКТЫ

J. Floege, F. Eitner

IMMUNOMODULATING THERAPY IN IgA-NEPHROPATHY – DEFINITION AND FACTS

¹ Отделение нефрологии и иммунологии университета Аахен, Германия

РЕФЕРАТ

Современные представления об инициальных патогенетических механизмах IgA-нефропатии (IgAN) предоставляют относительно ограниченное рациональное обоснование для назначения иммуносупрессивной терапии. Однако теоретически иммуносупрессивные препараты могли бы воздействовать на вторичную воспалительную реакцию, вызванную отложением иммунных депозитов в клубочках или протеинурией *per se*. Некоторые, но не все, рандомизированные клинические исследования в отношении кортикостероидной монотерапии, монотерапии микофенолат мофетилем или же комбинированной иммуносупрессивной терапии продемонстрировали эффективность как по суррогатным параметрам, таким как протеинурия, так и по жестким конечным точкам, таким как почечная недостаточность. Основная проблема таких исследований в том, что большая часть из них проектировалась в 1980-х и 90-х годах, когда рекомендации по поддерживающей терапии существенно отличались от современных. Прискорбно также то, что хотя за этот же период времени было опубликовано сравнимое количество рандомизированных исследований, показавших благоприятный эффект от назначения только поддерживающей терапии у пациентов с IgA-нефропатией, на данный момент нет ни одного исследования, напрямую сравнивающего два этих подхода. Ряд проводимых сейчас испытаний могут помочь в решении этой дилеммы. До момента их завершения целесообразным с практической точки зрения представляется подход, при котором на первых этапах оптимизируется поддерживающая терапия с дальнейшим назначением иммуносупрессивной терапии тем пациентам, которые не отвечают на стандартную терапию и имеют высокий риск прогрессивного ухудшения функции почек.

Ключевые слова: IgA-нефропатия, иммуносупрессия, кортикостероиды, циклофосфамид, микофенолат мофетил.

ABSTRACT

Our current understanding of initial pathogenetic steps in IgA nephropathy (IgAN) provides relatively limited rationale for immunosuppressive therapy. However, it is conceivable that immunosuppressive drugs might affect secondary inflammatory events triggered by glomerular immune deposits or even proteinuria *per se*. Some but not all randomized clinical trials on either corticosteroid monotherapy, mycophenolate mofetil monotherapy or immunosuppressive combination therapy have provided evidence for a benefit on either surrogate parameters such as proteinuria or hard end points such as renal failure. The central problem of these studies is that most were designed in the 1980s or 90s, when recommendations for supportive therapy were strikingly different from those of today. In the meantime an equal number of randomized clinical studies reporting a benefit of supportive therapy only has been published in patients with IgAN and, unfortunately, no head-to-head comparison of these two approaches is currently available. Several ongoing clinical trials may help to resolve this dilemma. Until the data of such studies become available, a pragmatic approach is to first optimize supportive therapy and reserve immunosuppressive medication for those patients failing a supportive approach and remaining at risk for progressive loss of renal function.

Key words: IgA-nephropathy, immunosuppression, corticosteroid, cyclophosphamide, mycophenolate mofetil.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на то, что IgA-нефропатия является наиболее часто встречающимся типом гломерулонефрита в западном мире, существует ощутимый недостаток больших рандомизированных кон-

тролируемых исследований этой патологии. Мета-анализ, проведенный в 2004 г., показал, что на тот момент было опубликовано не более 13 рандомизированных контролируемых исследований среди 623 больных, причем все исследования были довольно низкого качества [1]. Как бы то ни было, тот же метаанализ показал, что иммуносупрессивные препараты являются многообещающей стратегией, и что этот подход требует дальнейшего

Jurgen Floege. Klinikum der RWTH Aachen, Medizinische Klinik II (Nephrology and Immunology), Pauwelsstr 30, 52057, Aachen, Germany; phone: +49-241-8089 530; fax: +49-241-8082 446; E-mail: juergen.floege@post.rwth-aachen.de

изучения. В 2007 г. ситуация не изменилась, и мы до сих пор не достигли определенности в оценке роли иммуносупрессии при IgАН. В этой статье мы утверждаем, что основные причины этого заключаются в неуточненности роли иммуноопосредованных механизмов в патогенезе IgАН и недостатке адекватных исследований, сравнивающих современные неиммунные терапевтические подходы с иммуносупрессией. В дополнение, исследования при IgАН затруднены медленно прогрессирующей природой заболевания с 10-летней почечной выживаемостью превышающей 85%, неоднородностью пациентов, отсутствием интереса к данной категории больных со стороны фармацевтических компаний и, по крайней мере, в некоторых странах, зависимостью терапии от индивидуальных предпочтений конкретного специалиста.

Есть ли основания для иммуномодулирующей терапии при IgАН?

Модели на животных, даже те, для которых характерно формирование депозитов полимерного IgA (pIgA) в мезангии по типу заболевания человека, малоинформативны для изучения механизмов, лежащих в основе этого процесса у людей, хотя они и позволили пролить свет на некоторые его последствия. Одна из ключевых проблем здесь в том, что IgA-системы грызунов и человека имеют существенные различия [2]. Так, если у человека имеется два изотипа IgA: IgA1 и IgA2, то у грызунов – только один, по свойствам напоминающий IgA2. При этом, именно IgA1 откладывается при IgАН у людей. Также, в структуре шарнирного участка IgA практически всех млекопитающих отсутствует сайт аномального гликозилирования – процесса, характерного для IgАН человека. Исходя из вышесказанного, подтвердить эффективность и целесообразность назначения иммуномодулирующей терапии на животных нельзя. К слову, изолированная мутация бета-1,4-галактозилтрансферазы-I, фермента, участвующего в гликозилировании белков у мышей, приводит к развитию IgАН-подобного заболевания без вовлечения иммунных механизмов [3].

Какие данные подтверждают роль иммуномодулирующей терапии в терапии IgАН?

– У трети пациентов с IgАН повышена сывороточная концентрация IgA, pIgA. *In vitro* было показано, что мононуклеарные клетки при IgАН продуцируют повышенное количество IgA. Продукция pIgA1, изоформы, играющей наиболее важную роль в патогенезе заболевания, снижена в слизистых и повышена в костном мозге. Подавление IgA-от-

вета слизистых и увеличение антигенной нагрузки на костный мозг может быть первичной аномалией при IgАН. С другой стороны, часть IgA-продуцирующих плазмочитов может транслоцироваться в костный мозг со слизистых оболочек. Предположительно, иммуномодулирующая терапия может воздействовать на эти процессы, однако доказательств этому нет.

– Патологическое гликозилирование IgA1 при IgАН может способствовать образованию циркулирующих IgA-иммунных комплексов или нарушать взаимодействие IgA1 с мезангиальными клетками и/или Fc-рецепторами на поверхности моноцитов.

– При IgАН был описан циркулирующий анти-мезангиальный пул IgG [4]. Однако эта информация требует подтверждения.

– Иммуносупрессия может воздействовать на гломерулярные IgG депозиты, которые зачастую сопутствуют отложениям IgA. Только недавно были установлены некоторые детали их роли в патогенезе заболевания [5].

– Наконец, иммуномодулирующая терапия может воздействовать на ряд вторичных процессов, происходящих после отложения IgA1 в клубочке. Например, IgA может способствовать миграции воспалительных клеток в кровотоки и в почки, что может приводить к развитию той или иной степени воспаления. Fc-рецепторы к IgA (Fcα-рецепторы) на поверхности миелоидных и мезангиальных клеток могут играть ключевую роль в этом процессе. В дополнение, иммуносупрессивные препараты, такие как микофенолат мофетил (ММФ), показали свою эффективность при прогрессирующей почечной патологии в ходе экспериментов на неиммунных моделях (грызуны), таких как модель 5/6 нефрэктомии. Возможные механизмы, лежащие в основе таких наблюдений, могут включать в себя прямое антипролиферативное действие ММФ на клетки почек, а также снижение тубулоинтерстициального воспаления при почечной патологии с протеинурией.

Какие доводы свидетельствуют против целесообразности иммуномодулирующей терапии при IgАН?

– Патологическое гликозилирование IgA1 при IgАН может нарушать элиминацию IgA1, ингибируя взаимодействие IgA1 с IgA рецепторами на гепатоцитах. Действительно, печеночное выведение IgA при IgАН снижено. Представляется маловероятным, что иммуносупрессия будет затрагивать этот процесс.

– Высокая концентрация IgA в плазме *per se*

не является достаточным условием для развития IgАН; повышенный уровень циркулирующего моноклонального IgA (при миеломе) или pIgA (при ВИЧ) только в редких случаях провоцирует формирование IgA депозитов в мезангии.

– IgАН часто рецидивирует на фоне иммуно-терапии после трансплантации почек, и до настоящего момента не было предложено ни одного иммуносупрессивного агента, способного эффективно противодействовать этому процессу.

Собранные вместе эти данные предоставляют мало доводов в пользу того, что иммуносупрессия может воздействовать на инициальные патогенетические процессы при IgАН. В то же время, вторичные механизмы, в частности воспалительная реакция в клубочке в ответ на отложение IgA и неспецифические воспалительные реакции, лежащие в основе тубулоинтерстициального повреждения при прогрессирующей протеинурии, могут служить подходящими мишенями для такой терапии.

Подтверждают ли клинические данные необходимость назначения иммуномодулирующих препаратов при IgАН?

Обзор, опубликованный в 1999 г., показал, что иммуносупрессивная терапия целесообразна лишь в сравнительно небольшой группе пациентов, в частности у тех, у кого протеинурия нефротического уровня сочетается с нормальной или практически нормальной функцией почек. В этой статье мы сфокусируемся на рандомизированных исследованиях по применению иммуносупрессивной терапии у больных IgАН, опубликованных с 1999 г. (табл. 1). Изучались различные подходы, в том числе кортикостероидная монотерапия, микофенолат мофетил, а также комбинации этих методов. Все исследования проводились на больных с первичной IgАН и, как правило, пациенты с нефротическим синдромом и быстро прогрессирующим течением заболевания (манифестация васкулита) исключались.

Монотерапия кортикостероидами

– В 1999 г. С. Pozzi и соавт. [9] опубликовали рандомизированное контролируемое исследование пациентов с СКФ более 70 мл /мин. Пациентам случайным образом назначалась поддерживающая терапия и та же терапия в комбинации с кортикостероидами. В ходе 10-летнего наблюдения [10] отмечено удвоение креатинина сыворотки у 1 из 43 пациентов в группе стероидной терапии против 13 из 43 больных в контрольной группе.

– В 2000 г. Т. Shoji и соавт. [11] опубликовали результаты рандомизированного исследования, в

котором 8 пациентов, отобранных случайным образом, получали только антиагреганты, в то время как у 11 пациентов такая терапия дополнялась пероральным приемом преднизолона в течение 1 года. Через год в последней группе отмечалась положительная динамика в плане снижения уровня протеинурии и улучшения гистологических показателей. Это исследование затрагивало преимущественно пациентов низкого риска (нормальный уровень артериального давления, усредненное СКФ в норме, средняя протеинурия 0,75 г/сут).

– В 2003 г. R. Katafuchi и соавт. [12] подвели итоги рандомизированному контролируемому исследованию, в котором 43 пациента получали преднизолон перорально против 47 пациентов в контрольной группе. Хотя почечная выживаемость не улучшалась при стероидной терапии, снижение протеинурии наблюдалось только в группе пациентов, получавших глюкокортикостероиды (ГКС).

– В 2006 г. R. Hogg и соавт. [13] опубликовали рандомизированное контролируемое исследование, в котором 33 пациента получали преднизолон, 31 – плацебо. Число пациентов, достигших первичной конечной точки, т.е. снижения СКФ более чем на 40%, было одинаковым в обеих группах.

– В 2007 г. Y. Horita и соавт. [14] сообщили о результатах рандомизированного контролируемого исследования, в котором 18 пациентов в течение 24 месяцев получали только преднизолон, а 22 пациента – преднизолон и лозартан в дозе 50 мг. При этом протективный эффект в плане предотвращения снижения клиренса креатинина наблюдался лишь при назначении комбинации препаратов, в то время, как снижение протеинурии отмечалось в обеих группах.

Таким образом, в настоящий момент наилучшим доказательством эффективности кортикостероидов у пациентов с IgАН является работа С. Pozzi и соавт. [9,10]. Необходимо подчеркнуть, что все пациенты в этих исследованиях имели нормальную или приближенную к норме СКФ, в то время как данные, полученные ранее в Японии, указывают на возможную неэффективность монотерапии кортикостероидами у больных с начальной СКФ менее 70 мл/мин. [15] Также, исследования, использовавшие другие режимы назначения ГКС, не смогли продемонстрировать сходный благоприятный эффект. [13,14]

Микофенолат мофетил

– В 2004 г. B.D. Maes и соавт. [16] описали проспективное исследование среди 34 бельгийских больных со сниженной функцией почек, которые были рандомизированы в группы ММФ в дозе 2 г

Таблица 1

Перечень рандомизированных контролируемых исследований первичной IgA-нефропатии, опубликованных с 1999 г.

Исследование	Критерии включения	Исследуемая группа	Параметры анализа + продолжительность анализа (годы)	Основные результаты, полученные в группе иммуносупрессивной терапии по сравнению с контрольной	Уровень доказательности
Моноterapia ГКС Pozzi et al. 1999 [9, 10]	СПБ 1-3,5 г/сут; СКр < 1,5 мг/дл	n=43: поддерживающая терапия n=43: метилпреднизолон в 1 г/сут в течение 3х дней в 1,3,5 месяцев + пероральный преднизолон 0,5 мг/кг; альтернирующий прием в течение 6 месяцев n=8: антиагрегантная терапия n=11: пероральный преднизолон 0,8 мг/кг/сут с титрованием до 10 мг и переходом на альтернирующий прием в течение года n=47: только дитиридазол n=43: преворальный преднизолон 20 мг/сут с титрованием до 5 мг/сут в течение 18 месяцев	50% или 100% возрастание СКр по сравнению с исходным уровнем; продолжительность анализа - 1-10 лет	Значительное снижение количества пациентов с повышением СКр на 50% или 100%	A
Shoji et al. 2000 [11]	«диффузно-пролиферативная» IgA-нефропатия СКр < 1,5 мг/дл СПБ < 1,5 г	n=8: антиагрегантная терапия n=11: пероральный преднизолон 0,8 мг/кг/сут с титрованием до 10 мг и переходом на альтернирующий прием в течение года n=47: только дитиридазол n=43: преворальный преднизолон 20 мг/сут с титрованием до 5 мг/сут в течение 18 месяцев	СПБ, Гистологическая картина; Средняя продолжительность анализа - 1,1 г.	Снижение СПБ Улучшение гистологической картины через год** замечание: в группе антиагрегантной терапии в ходе исследования повышенное АД (см. табл.2)	B
Katafuchi et al. 2003 [12]	СКр < 1,5 мг/дл Гломерулярный индекс -4-7 (исходя из 12)	n=33: пероральный преднизолон 60 мг/м2/48ч в течение 12 месяцев; n=31: плацебо	СПБ и терминальная ХПН (ХПБ5) Средняя продолжительность анализа - 5,4 г.	Значительное снижение СПБ**, но не частоты ХБП5** замечание: значительно более высокая исходная протеинурия в группе стероидной терапии могла привести к более существенной регрессии СПБ	A
Hogg et al. 2007 [13]	Возраст < 40 лет, расчетная СКФ > 50 мл/мин Соотношение белок (г)/креатинин (г) мочи > 1 г***	n=33: пероральный преднизолон 60 мг/м2/48ч в течение 12 месяцев; n=31: плацебо	Снижение СКФ > 40%; продолжительность анализа - 2 г.	Нет значимых различий между группами	B
Horita et al. 2007 [14]	Клиренс СКр > 50 мл/мин СПБ > 1 г	n=18: пероральный преднизолон в дозе 30 мг/сут с титрованием до 10 мг/сут в течение 24 месяцев n=22: пероральный преднизолон + лозартан 50 мг/сут	СПБ, Клиренс СКр; продолжительность анализа - 2 г.	Значительной снижение СПБ в обеих группах; клиренс СКр стабилен только в группе комбинированной терапии	B
Мофетил Микофенолат Maes et al. 2004 [16]	СКФ 50-70 мл/мин и/или СПБ > 1 г	n=13: плацебо n=21: ММФ 2 г/сут в течение 3х лет	Клиренс инулина, СПБ; продолжительность анализа - 2 г.	ММФ не влияет ни на один из оцениваемых параметров	B
Tang et al. 2005 [17]	СПБ > 1 г; несмотря на применение иАПФ или БРА СКр < 3,4 мг/дл	n=20: без лечения n=17: ММФ 1,5-2 г/сут, в зависимости от массы тела пациента, в течение 6 месяцев n=15: плацебо n=17: ММФ 2 г/сут в течение 1 года	СПБ, СКр; продолжительность - 1,4 г.	Значимое снижение СПБ при отсутствии эффекта на СКФ	
Frish et al. 2005 [18]	СПБ > 1 г + 1 фактор риска прогрессирования	n=15: плацебо n=17: ММФ 2 г/сут в течение 1 года	50% повышение СКр или 50% снижение СПБ; средняя продолжительность анализа в среднем 1,2 г.	Отсутствие эффекта ММФ на оба оцениваемых параметра	B
Комбинированная иммуносупрессивная терапия Yoshikawa et al. 1999 [20]	«тяжелая IgA-нефропатия», т.е. около 20-25% клубочков с полунулумами	n=38: поддерживающая терапия (антикоагулянты: гепарин, далее варфарин и дитиридазол) n=40: пероральный преднизолон (максимально 80 мг/сут в течение 4 недель со снижением и переходом на альтернирующую схему 1 мг/кг до конца второго года) + фазтиоприн (2 мг/кг) в течение 2 лет + антикоагулянты n=40: пероральный преднизолон (2 мг/кг/сут с постепенным снижением и переходом на альтернирующий прием в дозе 1 мг/кг/сут до конца 2 года) n=40: пероральный преднизолон + азатиоприн (2 мг/кг/сут в течение 2 лет) + варфарин + дитиридазол n=19: поддерживающая терапия n=19: пероральный преднизолон (40 мг/сут со снижением до 10 к 2 годам) + циклофосфамид 1,5 мг/кг/сут в течение 3 месяцев, в последующем азатиоприн 1,5 мг/кг/сут в течение как минимум 2 лет	СПБ, Гистологическая картина; продолжительность анализа - 2 г.	Значимое снижение СПБ и темпа склерозирования клубочков при долгосрочном наблюдении	B
Yoshikawa et al. 2006 [21]	Диффузная мезангиальная пролиферация Возраст < 15 лет	n=40: пероральный преднизолон (2 мг/кг/сут с постепенным снижением и переходом на альтернирующий прием в дозе 1 мг/кг/сут до конца 2 года) n=40: пероральный преднизолон + азатиоприн (2 мг/кг/сут в течение 2 лет) + варфарин + дитиридазол	СПБ < 0,1 г/м2; продолжительность анализа - 2 г.	92% первичных конечных точек при комбинированной терапии по сравнению с 74% - при монотерапии	A
Ballardie et al. 2002 [22]	Прогрессирующая потеря почечной функции СКр = 1,48-2,84 мг/дл	n=19: поддерживающая терапия n=19: пероральный преднизолон (40 мг/сут со снижением до 10 к 2 годам) + циклофосфамид 1,5 мг/кг/сут в течение 3 месяцев, в последующем азатиоприн 1,5 мг/кг/сут в течение как минимум 2 лет	Сохранность почечной функции, Отклонение 1/СКр; СПБ; продолжительность анализа - 2 г.	Значимое снижение потери почечной функции спустя 3 года	A

Сокращения: и-АПФ – ингибиторы АПФ, БАР – блокаторы рецепторов ангиотензина, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, ХПН, ХБП, СКр – креатинин сыворотки, СКр – клиренс креатинина

*** замечание: а также соотношение белок (г)/креатинин (г) мочи > 0,5 + риск прогрессирования по результатам биопсии

Разделение уровней доказательности было основано на: [43]. А – RCT, которое продемонстрировало статистически значимые различия по крайней мере одного из оцениваемых параметров, или, если различия не были статистически значимыми, RCT, которое позволяло исключить 25 % различия относительного риска с 80 % точностью по наблюдаемым результатам. В – лучший уровень доказательности, который не удовлетворяет А критерии.

(n=21) или плацебо (n=13) после назначения иАПФ в обеих группах. После 3-летнего наблюдения не было зафиксировано различий по клиренсу инулина и уровню протеинурии.

– В 2005 г. S. Tang и соавт. [17] описали проспективное исследование среди 40 китайских больных с IgАН и сниженной функцией почек, получавших ингибиторы РААС, которые были рандомизированы на 1,5-2,0 г ММФ (n=20) или стандартной для того времени терапии (n=20). С помощью ММФ удавалось получить стойкую ремиссию протеинурии. Клиренс креатинина оставался на стабильном уровне, т.е. около 70 мл/мин, в течение всего времени наблюдения (72 недели).

– В 2005 г. G. Frisch и соавт. [18] опубликовал рандомизированное контролируемое исследование, в котором наблюдались 32 пациента с тяжелой IgАН (средний креатинин сыворотки 2,5 мг/дл), рандомизированные по ММФ против плацебо. Исследование было приостановлено досрочно в связи с тенденцией к худшему исходу заболевания в группе пациентов, получавших ММФ.

– Данные еще одного исследования, проводимого сейчас в США, а также итальянского трайла (<http://www.iganworld.org>) пока не доступны.

Исходя из этих данных, сложно сделать однозначный вывод о перспективах использования ММФ у больных IgАН. В одном из исследований препарат улучшал показатели протеинурии [17], в двух других же положительный эффект зафиксирован не был. [16,18] В случае исследования G Frisch и соавт. [18] тяжесть состояния пациентов, возможно, не позволяла ожидать положительной динамики от назначения ММФ. Однако, в наблюдениях S. Tang и соавт. [17] и B.D. Maes и соавт. [16] исходные уровни СКФ в группах ММФ и контроля были практически идентичны, показатели протеинурии также сильно не отличались. Это поднимает важный вопрос о том, является ли IgАН в азиатской и белой популяциях одной и той же нозологической единицей. Фактически, только 30% пациентов в китайском исследовании были мужского пола [17], по сравнению с 76% в Бельгии [16]. Это указывает на то, что заболеваемость IgАН равномерно распределена по половому признаку в Азии, тогда как среди белокожего населения отмечается преобладание лиц мужского пола, которые к тому же имеют худший прогноз [19].

Комбинированная иммуносупрессивная терапия

– В 2006 г. N. Yoshikawa и соавт. [20] опубликовали результаты рандомизированного контролируемого исследования проведенного среди японс-

ких детей с нормальным уровнем СКФ, которые получали лечение поддерживающей или иммуносупрессивной (кортикостероиды и азатиоприн) терапией. В течение 2-х лет наблюдения уровень протеинурии снизился с 1,0 до 0,9 г/сут г в контрольной группе и с 1,4 до 0,2 г/сутки в группе иммуносупрессии. СКФ оставалась нормальной у всех наблюдавшихся больных, кроме одного ребенка.

– В 2006 г. те же авторы [21] опубликовали другое рандомизированное контролируемое исследование японских детей, которые были рандомизированы либо на группу монотерапии преднизолоном или группу преднизолон в сочетании с азатиоприном, варфарином, и дипиридамолом. В группе комбинированной терапии конечной точки «ремиссии» (протеинурия менее 0,1 г/сут) достигло примерно на 20% больше детей.

– В 2002 F.W. Ballardie и соавт. [22] опубликовали рандомизированное контролируемое одноцентровое исследование у пациентов с прогрессирующим снижением функции почек. Пациенты были рандомизированы либо на лечение преднизолоном и цитостатиками или только на поддерживающую терапию. Почечная выживаемость в группе леченых больных продемонстрировала значительно лучшую сохранность функции в течение 5 лет (72% vs 6% в контроле).

– Результаты исследования, сравнивающего терапию кортикостероидами и терапию кортикостероидами в сочетании с азатиоприном (<http://www.igan-world.org>) в настоящее время не опубликованы, однако предварительные данные [доложено на конгрессе ERA-EDTA 2007] продемонстрировали отсутствие значимых различий в исходах между группами.

Возможно, наиболее важным из представленных, является исследование F.W. Ballardie и соавт. [22], продемонстрировавших впечатляющий эффект у пациентов с IgA нефропатией с крайне высоким риском потери почечной функции, в частности, с прогрессирующим снижением СКФ до рандомизации. Это исследование, таким образом, дает еще одно дополнительное подтверждение результатам С. Pozzi и соавт. [9], полученным у пациентов с относительно сохранной функцией почек на момент включения в исследование.

Другие подходы к иммуносупрессивной терапии, осуществленные в недавних исследованиях у пациентов с IgA нефропатией, включают лефлюномид [23], мизорибин [24], внутривенный иммуноглобулин [25], и чередующуюся, последовательную терапию циклофосфамид-ММФ [26]. Дизайн исследования, его нерандомизированный характер, отсутствие группы контроля и/или малочислен-

Таблица 2

Обобщенные данные о поддерживающей терапии и побочных эффектах по результатам исследований, перечисленных в таблице 1

Исследование	Достигнутое АД на протяжении исследования	Блокада ренин-ангиотензиновой системы	Основные побочные эффекты
Монотерапия глюкокортикостероидами			
Pozzi и соавт., 1999 год [9,10]	Среднее АД 134/84 мм.рт.ст	иАПФ использовались у 54% пациентов на протяжении всего или части исследования	Сахарного диабета тип 2 - 1 пациент
Shoji и соавт., 2000 год [11]	Систолическое АД 109 мм.рт.ст (группа ГК) vs. среднего систолического АД 116 мм.рт.ст (контрольная группа)	иАПФ не разрешены в протоколе исследования	Нет
Katafuchi и соавт., 2003 год [12]	120-130 мм.рт.ст систолическое и 70-80 мм.рт.ст диастолическое АД в обеих группах	7 из 90 пациентов	Нет
Hogg и соавт., 2007 год [13]	Информация недоступна	иАПФ только у пациентов с артериальной гипертензией	Нет
Horita и соавт., 2007 год [14]	101/65 мм.рт.ст (группа БАР) против среднего АД 125/75 мм.рт.ст	БАР только в одной группе	Информация недоступна
Микофенолатамофетил			
Maes и соавт., 2004 год [16]	125/74 мм.рт.ст (ММФ) против (vs.) 124/71 мм.рт.ст в конце исследования	Все пациенты получали иАПФ*	обострение туберкулеза легких – 1 пациент, жалобы со стороны желудочно-кишечного тракта – 2 пациента.
Tang и соавт., 2005 год [17]	122/71 (ММФ) против среднего АД 127/72 мм.рт.ст	иАПФ и/или БАР у всех пациентов с начала исследования	преходящая анемия – 3 пациента, диарея – 1 пациент, инфекция мочевыводящих путей – 2 пациента, шейный лимфаденит – 1 пациент
Frisch и соавт., 2005 год [18]	Среднее АД 129/82 мм.рт.ст	иАПФ и/или БАР у всех пациентов с начала исследования	нет
Комбинированная иммуносупрессивная терапия			
Yoshikawa и соавт., 1999 год [20]	Информация недоступна	Информация недоступна	По одному ребенку с глаукомой, катарактой, депрессией, петической язвой, алопецией и анемией. Существенная задержка роста и прибавка массы тела у иммуносупрессированных детей
Yoshikawa и соавт., 2006 год [21]	Информация недоступна	иАПФ или БАР не разрешены в протоколе исследования	У двоих детей развитие асептического некроза головки бедренной кости, четверо - с глаукомой, четверо – с лейкопенией (общее число пациентов n=80). Существенное увеличение индекса массы тела в обеих группах.
Ballardie и соавт., 2002 год [22]	Среднее АД около 110 мм.рт.ст	Информация недоступна	азатиоприн-индуцированное подавление костного мозга – 1 пациент, сахарный диабет – 1 пациент, активация туберкулеза легких – 1 пациент (общее число пациентов n=80).

Сокращения: иАПФ – ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента; БАР – блокаторы рецепторов ангиотензина. * - дозировка почти в 2 раза выше в группе ММФ.

ность групп не позволяют делать уверенного заключения на основании этих работ.

В чем проблемы исследований иммуномодулирующей терапии при IgA-нефропатии?

В исследованиях с назначением иммуносупрессивной монотерапии, описаны побочные эффекты в основном легкой степени. Серьезные побочные эффекты, однако, были зарегистрированы в исследованиях с комбинированной иммуносупрессивной терапией. (табл. 2).

Помимо побочных эффектов, центральной проблемой исследований, доступных в настоящее время, является тот факт, что они были спроектированы в 1980-х или 90-х гг., когда рекомендации по поддерживающей терапии значительно отличались от существующих в настоящее время. В частности, ни в одном из опубликованных исследований не назначалась адекватная поддерживающая терапия на начальном этапе включения в исследование [27,28].

Относительно одного из самых важных факторов прогрессирования гломерулярных болезней – гипертензии [19] – некоторые из исследований, представленных в табл. 1, либо не содержат данных об антигипертензивной терапии и/или об уровне артериального давления в период исследования, либо эти данные неполные (см. табл. 2). Детальная информация об артериальном давлении на протяжении исследования была опубликована в двух основных работах, в частности С. Pozzi и соавт. и F.W. Ballardie и соавт. [10, 22]. В работе С. Pozzi и соавт. среднее систолическое и диастолическое артериальное давление на протяжении наблюдения были в пределах 135 и 85 мм рт. ст. соответственно. В исследовании F.W. Ballardie и соавт. представлено только среднее артериальное давление в течение основного времени периода наблюдения, колеблющееся около 105 мм рт. ст. (соответствующее, к примеру, 135/90 мм рт. ст.). Эти данные значительно отличаются от рекомендуемого сегодня целевого уровня артериального давления 125/

75 мм рт. ст. у пациентов с заболеваниями почек и протеинурией более 1 г/сут.

Прочие исследования трудно интерпретировать, т.к. протеинурия – другой главный фактор риска прогрессирования [19] – был значительно выше при включении в исследование у пациентов с иммуносупрессивной терапией, по сравнению с пациентами только на поддерживающей терапии [12]. Это также в большой степени касается большого числа других неконтролируемых ретроспективных анализов иммуносупрессии при IgA нефропатии, не обсуждаемых в этом обзоре, но проанализированных нами недавно [29]. Кроме того, практически ни в одном из исследований не назначались антагонисты РАС всем пациентам с протеинурией, т.е. независимо от артериального давления, несмотря на то, что во всех исследованиях критерием включения была значительная протеинурия (см. табл. 2). Ни в одном из исследований не упоминается о титровании дозы и АПФ или блокаторов ангиотензиновых рецепторов до максимально переносимого уровня или о комбинации этих препаратов для достижения максимального антипротеинурического эффекта (см. ниже).

В заключении, практически во всех исследованиях, представленных в табл. 1, отсутствует информация о других факторах прогрессирования, таких как курение, потребление соли и белка или о регулярном использовании анальгетиков.

Существуют ли обоснованные неиммунные подходы к терапии IgA нефропатии?

У пациентов с прогрессирующим течением IgA нефропатии, так же как и с другими прогрессирующими гломерулярными болезнями, снижение артериального давления улучшает прогноз. Это было убедительно показано в крупных исследованиях, в которых от 20% [30] до 50% [31] пациентов имели IgA нефропатию, а также в исследованиях, посвященных исключительно пациентам с IgA нефропатией [32]. В последнем исследовании снижение артериального давления до 129/70 мм рт. ст. по сравнению с 136/76 мм рт. ст. в контрольной группе, определяло у пациентов с IgA нефропатией и с (почти) нормальной функцией почек и средней протеинурией 1,0 г/сут, либо отсутствие потери почечной функции либо 15% снижение функции почек, соответственно, в течение 3-х лет. Даже так называемые «нормотензивные» пациенты с артериальным давлением до 140/90 мм рт. ст. и не получающие лечения, могут не иметь «нормального» артериального давления. У пациентов с IgA нефропатией и офисным АД ниже 140/90 мм рт. ст., не получающих антигипертензивную терапию,

было продемонстрировано, по сравнению со здоровыми, соответствующими по возрасту и индексу массы тела, повышение АД в течение суток, а также сердечно-сосудистые изменения, предполагающие гипертензивное повреждение [33].

Антипротеинурическая терапия посредством блокады ренин-ангиотензиновой системы также убедительно продемонстрирована у пациентов с IgA нефропатией (обзор в [34]). Так, M. Praga и соавт. [35] отметили значительно лучшую почечную выживаемость у пациентов, получающих эналаприл в сравнении с пациентами, получающими другие классы антигипертензивных препаратов, при том же уровне артериального давления в течение периода наблюдения. К тому же выводу пришли в недавнем исследовании R. Corro и соавт. [36]. В исследовании из Гонконга [37] подобные результаты были показаны для валсартана. Сочетанное назначение иАПФ и блокаторов ангиотензиновых рецепторов (БАР) приводило к добавочному антипротеинурическому эффекту у пациентов с IgA нефропатией [38] и при долговременном наблюдении значительно замедляло потерю почечной функции [31]. Имеются также первые данные, что иАПФ или БАР могут сдерживать течение возвратной IgA нефропатии после трансплантации почки – состояние, до настоящего времени считавшееся неизлечимым. Так, A. Courtney [39] изучали 75 пациентов с терминальной почечной недостаточностью вследствие IgA нефропатии, из которых 39 были назначены иАПФ или БАР. В группе без назначения АПФ/БАР, 4/4 с рецидивирующей IgA нефропатией достигли терминальной почечной недостаточности, в сравнении с 3/9 из группы, леченных иАПФ/БАР.

Менее обоснованы попытки не иммуносупрессивной терапии у пациентов с IgA нефропатией с использованием рыбьего жира, антиагрегантов и антикоагулянтов. В метаанализе, посвященном терапии рыбьим жиром пациентов с IgA нефропатией, не было отмечено статистически значимого преимущества, хотя вероятность, по крайней мере, незначительного эффекта составила 75% [40]. Антиагреганты и антикоагулянты для лечения IgA нефропатии в основном используются в Азиатском регионе. Небольшое исследование, предполагает эффект терапии дипиридамолом (75 мг трижды в день) и варфарином (МНО 1,3-1,5) в сравнении с отсутствием лечения, но иАПФ не назначались этим пациентам [41].

Какую терапию выбирать какому пациенту?

Лечение пациентов с медленно прогрессирующим течением IgA нефропатии или пациентов с

Таблица 3

Предложения по практическому подходу к терапии пациентов с IgA-нефропатией до получения результатов дальнейших исследований

Клинический вариант	Предлагаемая терапия
Бессимптомная изолированная микрогематурия	Не требует лечения. Необходимо ежегодное медицинское наблюдение
Протеинурия < 0,5 г/сут с/без микрогематурии; СКФ нормальная	Не требует лечения. Необходимо ежегодное медицинское наблюдение
Протеинурия > 1,0 г/сут с/без микрогематурии; СКФ нормальная или медленно снижающаяся, но > 30 мл/мин	Оптимизировать поддерживающую терапию. Если протеинурия > 1,0 г/сут в течении 6 мес, решить вопрос об иммуносупрессии, например монотерапия кортикостероидами, следуя протоколу Pozzi у пациентов с СКФ > 70 мл/мин или следовать протоколу Ballardie при СКФ от 30 до 70 мл/мин
Нефротический синдром	Следовать изложенным выше рекомендациям, но определиться гистологически нет ли сочетания IgA-нефропатии и болезни минимальных изменений (БМИ) (В последнем случае следовать рекомендациям по лечению БМИ)
СКФ < 30 мл/мин	Оптимизация поддерживающей терапии. Иммуносупрессивная терапия более не рассматривается, кроме пациентов с быстро прогрессирующим и активным гломерулярным некрозом/образованием полулуний (см. ниже)
Быстро прогрессирующая почечная дисфункция с >50% полулуний и/или некрозом клубочков при биопсии	Обсуждение терапии как АНЦА-ассоциированных васкулитов

риском прогрессирования в настоящее время представляет дилемму. С одной стороны, существует несколько исследований, убедительно описывающих преимущества иммуносупрессии. С другой стороны, существует такое же число данных, сообщающих о положительном эффекте поддерживающей терапии. К сожалению, нет доступных прямых сравнений этих двух подходов к терапии, кроме небольшого корейского исследования. В этом исследовании сравниваются циклофосфамид в сочетании с преднизолоном и иАПФ и только иАПФ. Лучший эффект был достигнут при поддерживающей терапии в сравнении с иммуносупрессивной терапией [42]. Интересно также, что, по крайней мере в одном исследовании добавление иАПФ к монотерапии кортикостероидами приводило к значительному улучшению, тогда как кортикостероиды без ренин-ангиотензиновой блокады не замедляли прогрессирование почечной дисфункции [14].

Два продолжающихся исследования могут помочь разрешить эту неудовлетворительную ситуацию:

– STOP-IgAN: это исследование, начатое нами, поможет понять, имеет ли дополнительное преимущество дополнительное назначение иммуносупрессии к оптимальной поддерживающей терапии у пациентов с IgA-нефропатией и персистирующей протеинурией более 0,75 г/сутки, несмотря на поддерживающую терапию (<http://www.igan-world.org>)

– Исследование, сравнивающее 6-недельный прием преднизолона per os в сочетании с рамиприлом в сравнении с монотерапией рамиприлом у пациентов с IgA-нефропатией с протеинурией выше 1 г/сут и СКФ более 50 мл/мин (<http://www.igan-world.org>).

С новыми данными по продолжающимся ис-

следованиям можно ознакомиться на вебсайте International IgA Nephropathy Network (<http://www.igan-world.org>). До тех пор, пока эти данные не стали доступными, мы рекомендуем прагматический подход к различным пациентам с IgA-нефропатией (табл. 3).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Samuels JA, Stnppoh GF, Craig JC et al. Immunosuppressive treatments for immunoglobulin A nephropathy: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nephrology (Carlton)* 2004; 9: 177-185
- Emancipator SN. IgA nephropathy: morphologic expression and pathogenesis. *Am J Kidney Dis* 1994; 23: 451-462
- Nishie T, Miyaishi O, Azuma H et al. Development of immunoglobulin A nephropathy-like disease in beta-1, 4-galactosyltransferase-I-deficient mice. *Am J Pathol* 2007; 170: 447-456
- O'Donoghue DJ, Darvill A, Ballardie FW. Mesangial cell autoantigens in immunoglobulin A nephropathy and Henoch-Schönlein purpura. *J Clin Invest* 1991; 88: 1522-1530
- Rifai A. IgA nephropathy immune mechanisms beyond IgA mesangial deposition. *Kidney Int* 2007; 72: 239-241
- Tapia E, Franco M, Sanchez-Lozada LG et al. Mycophenolate mofetil prevents arteriosclerosis and renal injury in subtotal ablation despite persistent hypertension. *Kidney Int* 2003; 63: 994-1002
- Floege J. Recurrent IgA nephropathy after renal transplantation. *Semin Nephrol* 2004; 24: 287-291
- Nolm L, Courteau M. Management of IgA nephropathy: evidence-based recommendations. *Kidney Int Suppl* 1999; 70: S56-62
- Pozzi C, Bolasco PG, Fogazzi GB et al. Corticosteroids in IgA nephropathy: a randomised controlled trial. *Lancet* 1999; 353: 883-887
- Pozzi C, Andrulli S, Del Vecchio L et al. Corticosteroid effectiveness in IgA nephropathy: long-term results of a randomized, controlled trial. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 157-163
- Shoji T, Nakanishi I, Suzuki A et al. Early treatment with corticosteroids ameliorates proteinuria, proliferative lesions, and mesangial phenotypic modulation in adult diffuse proliferative IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 194-201
- Katafuchi R, Ikeda K, Mizumasa T et al. Controlled, prospective trial of steroid treatment in IgA nephropathy: a

limitation of low-dose prednisolone therapy. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 972-983

13. Hogg R, Lee J, Nardelli N et al. Clinical trial to evaluate omega-3 fatty acids and alternate day prednisone in patients with IgA nephropathy Report from the Southwest Pediatric Nephrology Study Group. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1: 457-474

14. Horita Y, Tadokoro M, Taura K et al. Prednisolone co-administered with losartan confers renoprotection in patients with IgA nephropathy. *Ren Fail* 2007; 29: 441-446

15. Kobayashi Y, Hiki Y, Kokubo T et al. Steroid therapy during the early stage of progressive IgA nephropathy A 10-year follow-up study. *Nephron* 1996; 72: 237-242

16. Maes BD, Oyen R, Claes K et al. Mycophenolate mofetil in IgA nephropathy results of a 3-year prospective placebo-controlled randomized study. *Kidney Int* 2004; 65: 1842-1849

17. Tang S, Leung JC, Chan LY et al. Mycophenolate mofetil alleviates persistent proteinuria in IgA nephropathy. *Kidney Int* 2005; 68: 802-812

18. Fnsch G, Lin J, Rosenstock J et al. Mycophenolate mofetil (MMF) vs. placebo in patients with moderately advanced IgA nephropathy: a double-blind randomized controlled trial. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 2139-2145

19. D'Amico G. Natural history of idiopathic IgA nephropathy and factors predictive of disease outcome. *Semin Nephrol* 2004; 24: 179-196

20. Yoshikawa N, Ito H, Sakai T et al. A controlled trial of combined therapy for newly diagnosed severe childhood IgA nephropathy The Japanese Pediatric IgA Nephropathy Treatment Study Group. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 101-109

21. Yoshikawa N, Honda M, Iijima K et al. Steroid treatment for severe childhood IgA nephropathy a randomized, controlled trial. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1: 511-517

22. Ballardie FW, Roberts IS. Controlled prospective trial of prednisolone and cytotoxics in progressive IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 142-148

23. Lou T, Wang C, Chen Z et al. Randomized controlled trial of leflunomide in the treatment of immunoglobulin A nephropathy. *Nephrology (Carlton)* 2006; 11: 113-116

24. Kawasaki Y, Hosoya M, Suzuki J et al. Efficacy of multidrug therapy combined with mizoribine in children with diffuse IgA nephropathy in comparison with multidrug therapy without mizoribine and with methylprednisolone pulse therapy. *Am J Nephrol* 2004; 24: 576-581

25. Rasche FM, Keller F, Lepper PM et al. High-dose intravenous immunoglobulin pulse therapy in patients with progressive immunoglobulin A nephropathy: a long-term follow-up. *Clin Exp Immunol* 2006; 146: 47-53

26. Rasche FM, Keller F, von Muller L et al. Mycophenolic acid therapy after cyclophosphamide pulses in progressive IgA nephropathy. *J Nephrol* 2006; 19: 465-472

27. Hebert LA, Wilmer WA, Falkenham ME et al. Renoprotection one or many therapies? *Kidney Int* 2001; 59: 1211-1226

28. Wilmer WA, Rovm BH, Hebert CJ et al. Management of glomerular proteinuria a commentary. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 3217-3232

29. Floege J, Eitner F. Present and future therapy options in IgA-nephropathy. *J Nephrol* 2005; 18: 354-361

30. Ruggenti P, Perna A, Gherardi G et al. Renal function and requirement for dialysis in chronic nephropathy patients

on long-term ramipril: REIN follow-up trial. Gruppo Itahano di Studi Epidemiologici in Nefrologia (GISEN). Ramipril Efficacy in Nephropathy. *Lancet* 1998; 352: 1252-1256

31. Nakao N, Yoshimura A, Morita H et al. Combination treatment of angiotensin-II receptor blocker and angiotensin-converting-enzyme inhibitor in non-diabetic renal disease (COOPERATE): a randomized controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 117-124

32. Kanno Y, Okada H, Saruta T et al. Blood pressure reduction associated with preservation of renal function in hypertensive patients with IgA nephropathy: a 3-year follow-up. *Clin Nephrol* 2000; 54: 360-365

33. Stefanski A, Schmidt KG, Waldherr R et al. Early increase in blood pressure and diastolic left ventricular malfunction in patients with glomerulonephritis. *Kidney Int* 1996; 50: 1321-1326

34. Dillon JJ. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers for IgA nephropathy. *Semin Nephrol* 2004; 24: 218-224

35. Praga M, Gutierrez E, Gonzalez E et al. Treatment of IgA nephropathy with ACE inhibitors A randomized and controlled trial. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1578-1583

36. Coppo R, Peruzzi L, Amore A et al. IgACE A Placebo-Controlled, Randomized Trial of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors in Children and Young People with IgA Nephropathy and Moderate Proteinuria. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 1880-1888

37. Li PK, Leung CB, Chow KM et al. Hong Kong study using valsartan in IgA nephropathy (HKVIN): a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Am J Kidney Dis* 2006; 47: 751-760

38. Russo D, Minutolo R, Pisani A et al. Coadministration of losartan and enalapril exerts additive antiproteinuric effect in IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 18-25

39. Courtney A, McNamee PT, Nelson WE et al. Does angiotensin blockade influence graft outcome in renal transplant recipients with IgA nephropathy? *Nephrol Dial Transplant* 2007; in press

40. Dillon JJ. Fish oil therapy for IgA nephropathy: efficacy and interstudy variability. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1739-1744

41. Lee GSL, Choong HL, Chiang GSC et al. Three year randomized controlled trial of dipyndamole and low-dose warfarin in patients with IgA nephropathy and renal impairment. *Nephrology* 1997; 3: 117-121

42. Hwang YC, Lee TW, Kim MJ et al. Clinical course of patients with IgA nephropathy between combined treatment of immunosuppressive agents and ACE inhibitor and ACE inhibitor alone. *Korean J Intern Med* 2001; 16: 105-109

43. Carruthers SG, Larochelle P, Haynes RB et al. Report of the Canadian Hypertension Society Consensus Conference: 1. Introduction. *Cmaj* 1993; 149: 289-293

44. Roccatello D, Ferro M, Coppo R et al. Report on intensive treatment of extracapillary glomerulonephritis with focus on crescentic IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 2054-2059

45. Harper L, Ferreira MA, Howie AJ et al. Treatment of vasculitic IgA nephropathy. *J Nephrol* 2000; 13: 360-366

Поступила в редакцию 21.10.2008 г.

Принята в печать 10.02.2009 г.

© А.В.Смирнов, М.М.Волков, В.А.Добронравов, 2009
УДК 616.61-036.12-08.357

А.В. Смирнов^{1,2}, М.М. Волков¹, В.А. Добронравов^{1,2}

КАРДИОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ D-ГОРМОНА У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ И СОБСТВЕННЫЕ ДАННЫЕ

A.V. Smirnov, M.M. Volkov, V.A. Dobronravov

CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF D-HORMONE IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE: LITERATURE REVIEW AND PERSONAL DATA

¹Кафедра пропедевтики внутренних болезней, ²Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им.акад.И.П.Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

Основной причиной смерти у пациентов с хронической болезнью почек являются сердечно-сосудистые болезни, риск развития которых повышается уже при незначительном снижении скорости клубочковой фильтрации. Причиной этого могут быть нарушения неэксcretорных функций почек, важное место среди которых занимает снижение синтеза в канальцах активной формы витамина D (ВД) – 1,25(OH)₂ витамина D – кальцитриола, который помимо регулирования фосфорно-кальциевого обмена оказывает важные эффекты на многие органы и ткани, включая сердечно-сосудистую систему. В обзоре рассмотрены результаты экспериментальных и клинических исследований, доказавших, что ВД тормозит активность ренин-ангиотензиновой системы, модулирует иммунную систему, что, в свою очередь, вызывает уменьшение системной воспалительной реакции, ингибирует пролиферацию и способствует дифференциации клеток. Эти механизмы приводят к торможению прогрессирования атеросклероза, гипертрофии левого желудочка, артериальной гипертензии, сердечной недостаточности и лежат в основе улучшения выживаемости пациентов, получающих лечение витамином D.

Ключевые слова: 1,25(OH)₂ витамин D, 25(OH) витамин D, артериальная гипертензия, кальциноз клапанов, атеросклероз, ренин-ангиотензиновая система, гипертрофия левого желудочка, сердечная недостаточность.

ABSTRACT

The main cause of death in patients with chronic kidney disease in cardiac illnesses, with the risk of their development increasing even at the low decrease levels of glomerular filtration. The cause of that could be the damage of nonexcretorial function of the kidney, one of which is decrease of the synthesis in the tubules of the active form of vitamin D (VD) – 1,25(OH)₂- vitamin D – calcitriol, which besides regulating the phosphorus-calcium exchange has a great impact on various organs and tissues, including the cardiac system. In this review we discussed the results of clinical and experimental data, which proves that VD slows down the activity of the renin-angiotensin system, modulates the immune system, which in itself leads to a system inflammatory reaction, inhibits proliferation and helps in cell differentiation. This mechanisms lead to the atherosclerosis progression, left ventricular hypertrophy, arterial hypertension, cardiac insufficiency decrease and are in the base of better patients, receiving vitamin D therapy, survival.

Key words: 1,25(OH)₂ vitamin D, 25(OH) vitamin D, arterial hypertension, valve calcinosis, atherosclerosis, renin-angiotensin system, left ventricular hypertrophy, cardiac insufficiency.

Длительное время считалось, что сердечно-сосудистая патология чаще встречается только у больных с хронической болезнью почек (ХБП), получающих заместительную почечную терапию [1] вследствие артериальной гипертензии, гипергидратации, анемии, приводящих к гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ). В дальнейшем было обнаружено, что увеличение риска сердечно-сосудистых заболеваний наблюдается уже при отно-

сительно небольшом снижении скорости клубочковой фильтрации, равной 75 мл/мин. [2]. Эти данные позволили прийти к выводу о важной роли раннего нарушения неэксcretорных функций почек, в первую очередь снижения синтеза в почечных канальцах активной формы витамина D – 1,25 (OH)₂D – кальцитриола.

С биологической точки зрения витамин D (ВД) является полноценным стероидным гормоном, так как синтезируется в организме и обладает высокоспецифичным рецептором. 90-95% ВД образу-

Смирнов А.В., 197022 Санкт-Петербург, ул. Толстого 17, СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова, тел.: 8-812-234-01-65, E-mail: smimov@nephrolog.ru

ется в коже под действием ультрафиолетовых лучей. После этого он гидроксилируется в печени с образованием 25(ОН) витамина D или кальцитриола (КТ) и затем в эпителии проксимальных канальцев под влиянием фермента 1α -гидроксилазы превращается в активную форму ВД – $1,25(\text{ОН})_2$ витамин D, кальцитриол (КТ) или D-гормон. Основное действие его состоит в повышении всасывания кальция (Ca) и фосфатов (P) в тонкой кишке, в некотором увеличении их реабсорбции в почечных канальцах, в торможении секреции паратгормона (ПТГ), в стимуляции минерализации костей и резорбции из них кальция. Однако, рецепторы ВД (РВД) были обнаружены не только в клетках традиционных органов-мишеней (кишечник, почки, паращитовидные железы), но также практически во всех других органах, включая сердце, сосудистую стенку, почки, а также иммунные клетки [3, 4, 5]. Это может косвенно указывать на то, что ВД способен оказывать эффекты, регулирующие не только фосфорно-кальциевый баланс, но и другие физиологические процессы. Присутствие фермента 1α -гидроксилазы во многих тканях позволяет им местно синтезировать КТ для собственных потребностей без участия почек (ауто- и паракринная функции D-гормона). Можно предположить, что D-гормон необходим в регуляции каких-то очень важных клеточных процессов во многих органах и тканях помимо его участия в минеральном обмене.

Значительную роль ВД играет в патологии сердечно-сосудистой системы [6]. Ускоренная сосудистая и висцеральная кальцификация, связанная с гиперфосфатемией, а также с гипер- и гипопаратиреозом коррелируют с повышенным риском сердечно-сосудистой патологии [7, 8]. Ранее предполагалось, что способность D-гормона повышать всасывание Ca и P в кишечнике может ускорять кальцификацию сосудов и прогрессирование сердечно-сосудистых болезней. Так, есть данные, что избыток этого гормона вызывает гиперкальциемию и сосудистый кальциноз, приводящий к снижению выживаемости пациентов, находящихся на гемодиализе, и к повышению частоты их госпитализаций [9, 10]. Однако эти сведения относятся к использованию избыточных доз ВД.

Ряд крупных популяционных работ последних лет, напротив, свидетельствуют в пользу возможного кардиопротективного эффекта ВД у пациентов с ХБП и в общей популяции. В одном из ретроспективных когортных исследований была изучена выживаемость более 50000 гемодиализных пациентов в США в течение 2 лет [11]. Оказалось, что в группе больных, получавших инъекционные формы ВД, общая и сердечно-сосудистая выжи-

ваемость были достоверно выше. Авторы отметили благоприятный эффект этих препаратов даже у пациентов с низкими значениями ПТГ и повышенным уровнем Ca и P крови, то есть в ситуациях, когда от терапии ВД обычно воздерживаются. В другой работе, включавшей 7700 пациентов, F Tentori и соавт. [12] сравнили группу больных на гемодиализе, не получавших ВД и группу, лечившихся витамином D₃ или его аналогами (кальцитриолом, парикальцитолом, доксеркальциферолом), и выявили лучшую выживаемость в последнем случае. Итоги еще одного обсервационного исследования, в которое вошли 242 больных, находящихся на гемодиализе [13] показали, что у пациентов, лечившихся одной из активных форм ВД – альфакальцитолом – риск смерти от сердечно-сосудистых болезней был ниже, по сравнению с контрольной группой, хотя различий в общей летальности выявлено не было. С помощью многофакторного анализа было установлено, что сердечно-сосудистая смертность определялась возрастом пациентов, наличием сахарного диабета и обратно коррелировала с фактом проведения терапии альфакальцитолом. К сожалению, все эти исследования не были рандомизированными и контролируемыми, поэтому в их интерпретации необходима осторожность. В последнее время были получены данные о влиянии лечения кальцитриолом на выживаемость у пациентов с ХБП 3-5 стадий, не получавших заместительную почечную терапию [14]. При назначении этого препарата 258 пациентам в среднем в течение 2,1 года значительно улучшалась их выживаемость, причем независимо от других прогностически важных факторов, таких как возраст, скорость клубочковой фильтрации, уровень ПТГ. Двухлетнее наблюдение за 168 пациентами с ХБП 2-5 стадий позволило выявить лучшую выживаемость у больных с более высоким изначальным уровнем КД крови, не зависящую от возраста, наличия сердечной недостаточности (СН), курения, скорости клубочковой фильтрации, уровней СРБ, альбумина, фосфатов, а также от терапии ингибиторами АПФ или антагонистами ангиотензиновых рецепторов [15]. Очень убедительные данные были представлены при наблюдении за 1739 участниками Фремингемского исследования, не имевшими сердечно-сосудистой патологии. В группе лиц с низким уровнем КД в крови (<15 пг/мл) частота сердечно-сосудистых осложнений на протяжении наблюдения в течение 5,4 лет оказалась выше, чем у участников исследования с более высокими значениями КД [16]. Не менее впечатляющими явились результаты семилетнего наблюдения за 3258 пациентами с подтвержденным ди-

агнозом коронарного атеросклероза (коронарография). Оказалось, что базальные концентрации КД и КТ могут служить независимыми предикторами общей и сердечно-сосудистой смертности [17]. Данные об улучшении выживаемости пациентов, получавших ВД, вызвали интерес к изучению его возможных механизмов кардиопротективного действия.

В конце 80-х годов обратили внимание, что эссенциальная гипертензия часто сочетается с низким уровнем Са крови [18] и высокими значениями ПТГ [19]. Хотя эти факторы и могли быть причинными в развитии артериальной гипертензии (АГ), ряд исследователей высказывали мысль о том, что при наличии дефицита ВД возможно активирование ренин-ангиотенизиновой системы (РАС) [20, 21, 22]. Клинические и эпидемиологические исследования, проведенные у лиц как с нормальным артериальным давлением (АД), так и с артериальной гипертензией (АГ), выявили обратную связь концентрации КТ сыворотки крови с уровнем АД [23, 24, 21], а также с активностью ренина плазмы [20, 21]. У пожилых женщин с дефицитом ВД короткий курс холекальциферола ($25(\text{OH})\text{D}_3$) в сочетании с препаратами кальция приводил к снижению АД [25]. В другом исследовании было показано, что 18-недельный прием ВД снижал уровень АД у лиц с АГ [26]. У пациентов на гемодиализе с вторичным гиперпаратиреозом длительная внутривенная терапия КТ вызвала падение уровней ренина и ангиотензина II плазмы [22]. Было показано, что регулярное облучение ультрафиолетовыми лучами гипертоников с низким содержанием в крови КД (в среднем 26 пмоль/л) в течение 6 недель приводило к повышению его уровня до 100 пмоль/л и выше, что сопровождалось снижением АД (приблизительно на 6 мм рт. ст.) [27]. Все эти данные позволили выдвинуть гипотезу, состоящую в том, что ВД, подавляя синтез ренина в организме, способствует тем самым снижению АД. Используя в качестве модели мутантных животных с «выключенными» генами (нокаутных животных), удалось объяснить механизм такой связи [28, 29]. Li YC с соавт. [28] установили, что уровень м-РНК ренина в почечной ткани оказался значительно повышенным у мышей, нокаутных по генам рецептора витамина D (РВД) и $1\pm$ -гидроксилазы. У этих же животных отмечалась высокая концентрация в плазме крови ангиотензина II при нормальных значениях уровня ангиотензиногена в печени. В опытах на животных с генетически измененными РВД было доказано, что подавление экспрессии ренина витамином D не зависит от уровней Са и ПТГ крови [30]. Другие

авторы показали, что у мышей с генетически обусловленным отсутствием РВД формируется гипертензия и гипертрофия миокарда вследствие дисрегуляции РАС [31, 32]. Предполагается, что действие КТ реализуется на уровне гена, отвечающего за синтез ренина. В последних исследованиях было обнаружено, что влияние активных форм ВД на РАС не сводится только к подавлению экспрессии ренина. Используя в качестве модели 5/6 нефрэктомизированных крыс, M Freundlich с соавт. [33] обнаружили, что терапия активным дериватом ВД – парикальцитолом – приводила к снижению в почечной ткани уровней м-РНК ангиотензиногена, ренина и рениновых рецепторов на 30-50% по сравнению с группой, не получавшей лечения. Также было выявлено уменьшение экспрессии белков ренина, рениновых и 1 типа ангиотензиновых рецепторов. При введении ВД у крыс снижался уровень АД и протеинурии, уменьшались признаки гломерулярного и тубулоинтерстициального повреждения почек, замедлялись темпы снижения почечной функции. Таким образом, авторы показали, что КТ не только на генетическом уровне регулирует синтез ренина, но и оказывает влияние на другие компоненты РАС.

В некоторых экспериментальных и клинических наблюдениях было продемонстрировано, что терапия ВД способна сдерживать прогрессирование ГЛЖ. Так, CW Park с соавт. [22] показали, что лечение пациентов на гемодиализе с вторичным гиперпаратиреозом кальцитриолом внутривенно в течение 15 недель приводит к уменьшению выраженности ГЛЖ по данным эхокардиографии. В другой работе было обнаружено улучшение систолической функции ЛЖ, оцененное эхокардиографически, после 6-недельного лечения 12 пациентов 1α -гидроксихолекальциферолом [34]. Терапия кальцитриолом 25 больных на гемодиализе с выраженным гиперпаратиреозом в течение 15 недель сопровождалась уменьшением степени выраженности ГЛЖ, укорочением длительности интервала QT на ЭКГ [35]. Таким образом, клинические наблюдения подтверждают наличие кардиопротективного действия ВД. В опытах на животных было показано, что назначение активных форм ВД ведет к уменьшению гипертрофии миокарда [36, 37], диаметра левого желудочка сердца [35]. Механизмы влияния ВД на миокард были изучены в экспериментальных исследованиях на животных и *in vitro*. В опытах на изолированных сердцах крыс была доказана роль ВД в торможении пролиферации и гипертрофии миоцитов [38, 39]. Авторы показали, что дефицит ВД индуцирует истинную гипертрофию миокарда, а также приводит к увели-

чению продукции экстрацеллюлярного матрикса. Объем кардиомиоцитов у мышей с генетически обусловленным отсутствием РВД (нокаутных по РВД) был больше по сравнению с контролем [31]. Добавление КТ к культуре клеток миокарда желудочков новорожденных крыс ингибировало их пролиферацию, сопровождалось снижением уровня белка проонкогена c-myc и концентрации протеина ядерных антигенов к пролиферирующим миоцитам [40]. Эти данные подтверждают факт влияния ВД на уровень экспрессии генов в миоцитах, ответственных за синтез веществ, участвующих в пролиферации и гипертрофии. При использовании такой же культуры миоцитов новорожденных крыс другие исследователи обнаружили, что 1,25-витамина D_3 подавляет вызванную эндотелином гипертрофию миоцитов, а также связанную с ней экспрессию актина и гена атриального натрийуретического пептида [41]. Последний эффект КТ подтверждают и данные других авторов [40]. Получены также сведения, показывающие, что назначение одного из дериватов D-гормона (парикальцитола) крысам со спонтанной гипертензией, находящимся на высокосолевой диете, приводит к снижению накопления коллагена в миокарде [39, 37], который, в свою очередь, является важным фактором интерстициального ремоделирования сердца, формирования гипертрофии и диастолической дисфункции миокарда [43, 44].

Дефицит ВД может играть важную роль и в патогенезе сердечной недостаточности (СН). A Zittermann с соавт. [45] показали, что более высокий уровень N-терминального атриального натрийуретического пептида, который является биохимическим предиктором тяжести СН и гипертрофии миокарда, у пациентов с СН II и выше функционального класса вне зависимости от возраста (старше или моложе 50 лет) ассоциируется с более низкими значениями КД и КТ сыворотки крови по сравнению с группой здоровых лиц. Эти же авторы обнаружили, что низкие значения КТ в крови связаны с риском неблагоприятных исходов у больных с терминальной СН [46]. Еще в одном клиническом исследовании были получены данные о прямой связи между толерантностью к физической нагрузке у пациентов с СН и уровнем КД сыворотки [47]. Связь уровня ВД с СН подтверждают и наши данные: у больных с ХБП 1-4 стадий концентрация КД в сыворотке крови была ниже при наличии СН II и выше функционального класса (рис.1).

Механизмы влияния ВД на сократительную функцию миокарда многообразны и не раскрыты полностью. В экспериментах с животными и кле-

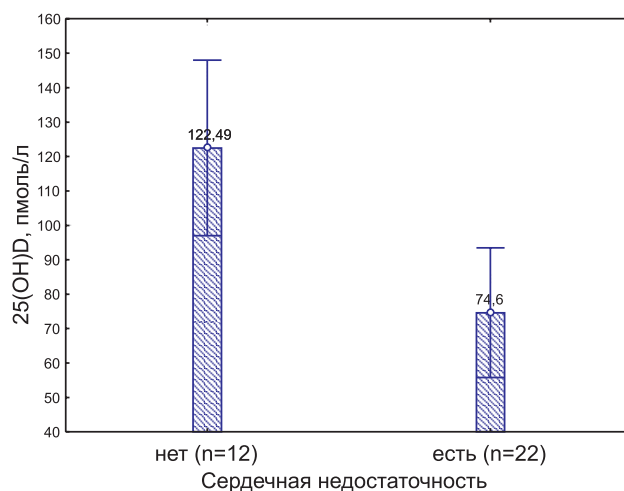


Рис.1. Уровни кальцидиола в группах больных с ХБП, различающихся по наличию сердечной недостаточности ($p=0,004$). Показаны средние значения. Вертикальные линии отражают 95% доверительный интервал.

точными культурами миоцитов было доказано, что ВД оказывает несколько биологических эффектов на миокард, причем влияет как прямо, так и косвенно за счет снижения уровня ПТГ и повышения концентрации Са крови [48, 49, 50]. Позитивное влияние ВД на сократимость отчасти объясняется Са-зависимым механизмом, так как поступление Са в миоциты частично регулируется ВД [48]. Кроме того, КТ изменяет сократимость кардиомиоцитов за счет модификации тканевого распределения цепей миозина [49]. В исследованиях с культурой клеток миокарда новорожденных крыс было показано, что ВД ингибирует пролиферацию [49], гипертрофию [41] и созревание миоцитов [50]. Как было отмечено выше, способствовать развитию СН может отложение коллагена в межклеточном пространстве миокарда, более выраженное при дефиците ВД [39, 37]. Кроме того, КТ модулирует сократительную функцию миокарда и в этом важную роль играет протеинкиназа С [51]. В одной работе с использованием изолированных сердец крыс [51] авторы показали, что острый эффект КТ на миоциты заключается в снижении пикового укорочения, ускорении сокращения и расслабления миоцитов в течение 5 минут после введения активной формы ВД, причем этот процесс осуществлялся при участии протеинкиназы, фосфорилирующей основные регуляторные протеины. При длительном назначении ВД наблюдается продолжительное ускорение расслабления миоцитов, не зависящее от протеинкиназы. Можно предположить, что длительный позитивный эффект D-гормона заключается в улучшении функции расслабления миокарда.

ВД способен оказывать значительное влияние на развитие атеросклероза. Так, в наших исследованиях мы определили, что в группе больных с

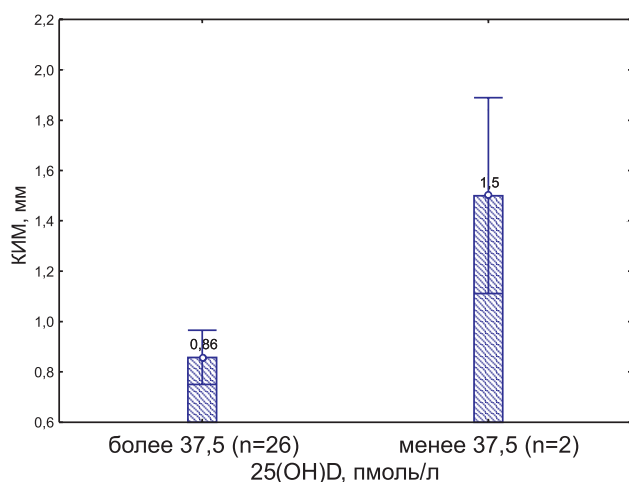


Рис.2. Зависимость толщины КИМ от уровня кальцидиола сыворотки ($p=0,003$). Показаны средние значения. Вертикальные линии отражают 95% доверительный интервал.

низким уровнем КД была больше толщина комплекса интима-медиа (КИМ) сонных артерий, характеризующая выраженность атеросклероза (рис. 2).

Роль ВД в генезе атеросклероза подтверждает клиническое наблюдение о повышенном риске развития инфаркта миокарда и инсульта у пожилых лиц с низким поступлением ВД с пищей и сниженным уровнем КТ в сыворотке крови [52].

В настоящее время известно, что ключевым механизмом атерогенеза является воспаление, тесно связанное с активацией клеток иммунной системы: Т-лимфоцитов, макрофагов и дендритных клеток, обладающих рецепторами к КТ на клеточной мембране [53, 54, 55]. В ответ на отложение в интиме окисленных липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) Th-1 лимфоциты начинают продуцировать интерферон гамма ($IFN-\gamma$) – потенциальный активатор макрофагов. Активированные макрофаги, в свою очередь, синтезируют $IL-1\beta$, $IL-6$ и $TNF-\alpha$. Данные цитокины интенсифицируют процессы инфильтрации интимы моноцитами, активируют матриксные металлопротеиназы (ММП). С другой стороны, лимфоциты Th-1 тормозят активность Th-2 лимфоцитов, продуцирующих $IL-10$, который сдерживает активацию макрофагов [55]. Эти факторы вносят вклад в пролиферацию гладкомышечных клеток и образование бляшек, повышение синтеза и освобождение позитивных острофазовых белков, таких как С-реактивный белок (СРБ), амилоид А и снижение продукции негативных острофазовых белков (альбумина и трансферрина) [53]. Не случайно, как было показано во многих клинических исследованиях, СРБ является предиктором развития атеросклероза и его осложнений [53].

Благодаря своим иммунорегулирующим эффектам [56] ВД подавляет воспаление, воздействуя на иммунные клетки, имеющие РВД. Модулируя фун-

кцию дендритных клеток, представляющих антигены, он приводит к уменьшению продукции провоспалительных цитокинов [57]. ВД подавляет активность ядерного транскрипционного фактора kB ($NF-kB$), играющего значительную роль в клеточном ответе на различные стимулы, повышает продукцию $IL-10$, снижает уровни $IL-6$, $IL-12$, $INF-\gamma$ и $TNF-\alpha$, что приводит к такому профилю цитокинов, при котором воспаление выражено меньше [56]. D-гормон также снижает пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, что может иметь значение не только в атерогенезе, но и в патогенезе АГ [58].

ВД модулирует также экспрессию матриксных металлопротеиназ (ММП) [59]. Данные энзимы соединительной ткани секретируются активированными макрофагами при воспалении и участвуют в ремоделировании сосудистой стенки. ММП расщепляют коллаген атеросклеротических бляшек, что способствует их разрыву и тромбозу [53, 54, 55]. РМ Timms с соавт. [59] определили зависимость между уровнем СРБ, ММП-9, тканевым ингибитором металлопротеиназы-1 (ТИМП-1) и КД сыворотки крови в общей популяции. Авторы обнаружили, что уровень ММП-9 обратно коррелировал с концентрацией КД в сыворотке крови. С помощью множественного регрессионного анализа было установлено, что уровень последнего был обратно связан только с концентрацией ММП-9 и СРБ. После лечения холекальциферолом в течение года у пациентов восстановился уровень ВД в крови и значительно снизились значения СРБ и активность ММП-9, ТИМП-1 [59]. Таким образом, D-гормон способен подавлять различные механизмы воспаления, лежащие в основе атеросклероза, а его дефицит может ассоциироваться с нестабильным состоянием атеросклеротической бляшки.

В течение длительного времени считалось, что терапия ВД может ускорять кальциноз мягких тканей и сосудов за счет повышения концентраций Са и Р в сыворотке вследствие усиления их всасывания в кишечнике. Есть данные, что избыток ВД вызывает гиперкальциемию и сосудистый кальциноз, приводящий к снижению выживаемости и повышению частоты госпитализаций [60, 61]. Тем не менее, в опытах на мышах было показано, что применение ВД (кальцитриола и парикальцитолола) в дозах, достаточных для подавления вторичного гиперпаратиреоза, предотвращало кальцификацию аорты [62]. В одном из клинических исследований была обнаружена обратная зависимость между концентрацией КТ в крови и выраженностью кальциноза коронарных сосудов у пациентов без ХБП [63].

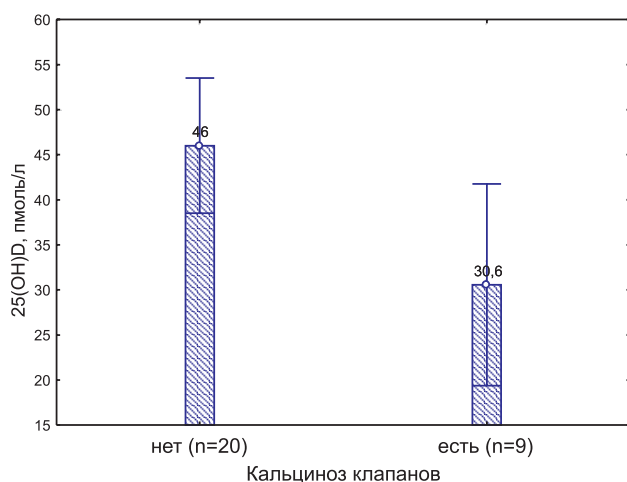


Рис. 3. Уровень кальцидиола в группах пациентов, различающихся по наличию кальциноза клапанов сердца ($p=0,026$). Показаны средние значения. Вертикальные линии отражают 95% доверительный интервал.

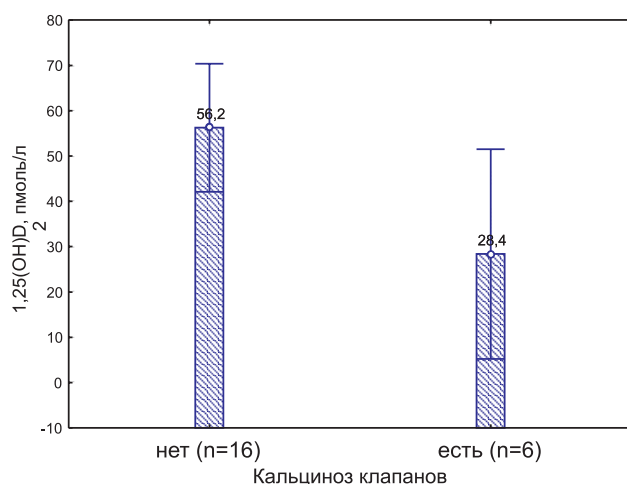


Рис. 4. Уровень кальцитриола в группах пациентов, различающихся по наличию кальциноза клапанов сердца ($p=0,044$). Показаны средние значения. Вертикальные линии отражают 95% доверительный интервал.

Есть основания предположить наличие U-образной зависимости между концентрацией ВД и выраженностью кальциноза мягких тканей и сосудов, которая означает, что при очень низких и чрезмерно высоких значениях ВД кальциноз усиливается, а при оптимальных значениях – замедляется [64].

Уровень ВД влияет на развитие кальцификации не только сосудов, но и сердечных клапанов. Так, мы обнаружили, что у пациентов с ХБП 2-4 стадий, имеющих кальциноз сердечных клапанов (митрального, аортального или обоих), значения КД и КТ в сыворотке крови были ниже (рис. 3, 4).

В патогенезе атеросклероза значительную роль играет эндотелиальная дисфункция. В опытах на животных было показано, что применение атерогенной диеты приводит к повышенной экспрессии молекул адгезии мононуклеарных лимфоцитов

(VCAM-1) на эндотелиальной поверхности, что рассматривается как ранний и необходимый этап патогенеза атеросклероза [65]. Этот процесс способствует адгезии воспалительных клеток, выделению ими цитокинов и поступлению липидов в сосудистую стенку. Известно, что клетки эндотелия обладают способностью экспрессировать фермент 1α -гидроксилазу, и, следовательно, способны синтезировать D-гормон местно, из циркулирующего предшественника – КД. В ряде исследований было показано, что D-гормон снижает адгезивные свойства эндотелия. Так, в культуре клеток добавление КТ вызывало уменьшение концентрации VCAM-1 и молекул межклеточной адгезии (ICAM-1) [66]. КТ ингибировал индуцированную цитокинами экспрессию ICAM-1 в клетках проксимальных канальцев [67], подавлял экспрессию VCAM-1 эндотелиоцитами *in vitro* [68]. При исследовании 3258 пациентов с клинически значимым атеросклерозом была обнаружена обратная зависимость между концентрацией КД и уровнями молекул адгезии в крови (VCAM-1 и ICAM-1) [69]. Есть также данные о позитивной связи между уровнями КД и тканевого активатора плазминогена, что может указывать на профибринолитический эффект ВД, хотя клиническая значимость его требует уточнения [70].

Как известно, важнейшими факторами риска развития и прогрессирования атеросклероза являются сахарный диабет и инсулинорезистентность (снижение реакции инсулинчувствительных тканей к действию инсулина при его достаточной концентрации в крови). По данным многочисленных исследований для нормальной секреции инсулина необходим достаточный уровень КТ. β -клетки поджелудочной железы имеют РВД, что указывает на участие ВД в секреции инсулина. Экспериментальные исследования показали, что снижение уровня ВД может приводить как к инсулинорезистентности, так и к снижению секреции инсулина [71]. Замечено, что с возрастом уровень глюкозы крови и частота сахарного диабета повышаются [72], а уровень КД падает [73]. В одном исследовании было показано, что у иммигрантов из Южной Азии, находящихся в Великобритании, сахарный диабет встречался чаще, а содержание инсулина сыворотки, измеренное после нагрузки глюкозой было в 2 раза выше, чем у местного населения [74]. При интерпретации этих данных следует учитывать тот известный факт, что образование ВД в пигментированной коже происходит менее интенсивно. Есть данные, что у женщин в менопаузе при низких значениях КД сыворотки наблюдается более высокий уровень гликемии [75]. При проведении глюко-

Механизмы, лежащие в основе кардиопротективных эффектов витамина D

1. Антагонизм к РАС
2. Антипролиферативный
3. Улучшение сократительной способности миокарда
4. Противовоспалительный
5. Антиатерогенный
6. Антидиабетический

зотолерантного теста подъем концентрации глюкозы в крови был значительно выше у пожилых людей с более низким уровнем КД крови [76]. Приведенные данные позволяют предположить, что недостаточность КД может являться фактором риска снижения толерантности к глюкозе. При выполнении глюкозотолерантного теста у молодых здоровых лиц была обнаружена обратная зависимость между концентрацией КД сыворотки и уровнями глюкозы натощак, на 90, 120 минутах теста и прямая зависимость с показателем чувствительности к инсулину [77]. Следовательно, при низком уровне КД повышается риск развития резистентности к инсулину и формирования метаболического синдрома. Многие исследователи доказали, что у пациентов с ХБП определяется инсулинорезистентность [78, 79], которая сопровождается гиперинсулинизмом и снижением толерантности к глюкозе [80]. Вместе с тем хорошо известно, что у пациентов с ХБП по мере прогрессирования заболевания снижается уровень КТ [81]. Поэтому можно предположить, что инсулинорезистентность в этой группе пациентов связана с дефицитом ВД. Действительно, такая зависимость была обнаружена М Choncol с соавт. [82], которые показали на большом материале (14679 пациентов с ХБП), что функция почек и уровень ВД были независимо и обратно связаны с инсулинорезистентностью. Дефицит КД, нарастающий по мере прогрессирования ХБП и способствующий развитию инсулинорезистентности и гипергликемии, вносит вклад в прогрессирование сердечно-сосудистых болезней.

Подводя итог, можно сделать вывод, что ВД

оказывает благоприятное влияние на сердечно-сосудистую систему путем реализации многих механизмов, помимо регуляции фосфорно-кальциевого баланса (таблица).

D-гормон, благодаря этим эффектам, оказывает кардиопротективное действие, состоящее в торможении атерогенеза, замедлении развития сосудистой и клапанной кальцификации, снижении АД, улучшении процессов сокращения и расслабления миокарда, уменьшении выраженности ГЛЖ (рис.6). Все это приводит к замедлению прогрессирования сердечно-сосудистой патологии и к улучшению выживаемости пациентов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998;32(5 Suppl 3):S112-119
2. Vanholder R, Massy Z, Argiles A et al. Chronic kidney disease as cause of cardiovascular morbidity and mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20(6):1048-1056
3. Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA et al. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J Bone Miner Res* 1998;13(3):325-349
4. O'Connell TD, Simpson RU. Immunochemical identification of the 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor protein in human heart. *Cell Biol Int* 1996;20(9):621-624
5. Sandgren ME, Bronnegard M, DeLuca HF. Tissue distribution of the 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in the male rat. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 181(2):611-616
6. Levin A, Li YC. Vitamin D and its analogues: do they protect against cardiovascular disease in patients with kidney disease? *Kidney Int* 2005;68(5):1973-1981
7. Blacher J, Guerin AP, Pannier B et al. Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. *Hypertension* 2001;38(4):938-942
8. Adragao T, Pires A, Lucas C et al. A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(6):1480-1488
9. Goldsmith DJ, Covic A, Sambrook PA, Ackrill P. Vascular calcification in long-term hemodialysis patients in a single unit: a retrospective analysis. *Nephron* 1997;77(1):37-43
10. Milliner DS, Zinsmeister AR, Lieberman E, Landing B. Soft tissue calcification in pediatric patients with end-stage renal disease. *Kidney Int* 1990;38(5):931-936
11. Teng M, Wolf M, Ofsthun MN et al. Activated injectable vitamin D and hemodialysis survival: a historical cohort study. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(4):1115-1125
12. Tentori F, Hunt WC, Stidley CA et al. Mortality risk among hemodialysis patients receiving different vitamin D analogs. *Kidney Int* 2006;70(10):1858-1865
13. Shoji T, Shinohara K, Kimoto E et al. Lower risk for cardiovascular mortality in oral 1alpha-hydroxy vitamin D3 users in a haemodialysis population. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(1):179-184
14. Kovesdy CP, Ahmadzadeh S, Anderson JE, Kalantar-Zadeh K. Association of activated vitamin D treatment and mortality in chronic kidney disease. *Arch Intern Med* 2008;168(4):397-403
15. Ravani P, Malberti F, Tripepi G et al. Vitamin D levels and patient outcome in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2009;75(1):88-95
16. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 2008;117(4):503-511
17. Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H et al. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels with all-cause and cardiovascular

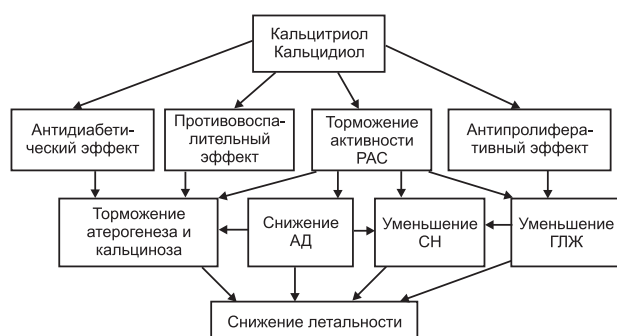


Рис. 6. Гипотетическая модель влияния витамина D на сердечно-сосудистую систему.

mortality. *Arch Intern Med* 2008;168(12):1340-1349

18. McCarron DA, Morris CD. The calcium deficiency hypothesis of hypertension. *Ann Intern Med* 1987;107(6):919-922

19. Jorde R, Svartberg J, Sundsfjord J. Serum parathyroid hormone as a predictor of increase in systolic blood pressure in men. *J Hypertens* 2005;23(9):1639-1644

20. Resnick LM, Muller FB, Laragh JH. Calcium-regulating hormones in essential hypertension. Relation to plasma renin activity and sodium metabolism. *Ann Intern Med* 1986; 105(5): 649-654

21. Burgess ED, Hawkins RG, Watanabe M. Interaction of 1,25-dihydroxyvitamin D and plasma renin activity in high renin essential hypertension. *Am J Hypertens* 1990; 3(12 Pt 1):903-905

22. Park CW, Oh YS, Shin YS et al. Intravenous calcitriol regresses myocardial hypertrophy in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Am J Kidney Dis* 1999;33(1):73-81

23. Kristal-Bohen E, Froom P, Harari G et al. Association of calcitriol and blood pressure in normotensive men. *Hypertension* 1997; 30:1289-1294

24. Lind L, Hanni A, Lithell H et al. Vitamin D is related to blood pressure and other cardiovascular risk factors in middle-aged men. *Am J Hypertens* 1995;8(9):894-901

25. Pfeifer M, Begerow B, Minne HW et al. Effects of a short-term vitamin D(3) and calcium supplementation on blood pressure and parathyroid hormone levels in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(4):1633-1637

26. Lind L, Wengle B, Wide L, Ljunghall S. Reduction of blood pressure during long-term treatment with active vitamin D (alphacalcidol) is dependent on plasma renin activity and calcium status. A double-blind, placebo-controlled study. *Am J Hypertens* 1989;2(1):20-25

27. Krause R, Buhring M, Hopfenmuller W et al. Ultraviolet B and blood pressure. *Lancet* 1998;352(9129):709-710

28. Li YC, Kong J, Wei M et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest* 2002;110:229-238

29. Li YC. Vitamin D regulation of the renin-angiotensin system. *J Cell Biochem* 2003 1;88(2):327-331

30. Kong J, Qiao G, Zhang Z et al. Targeted vitamin D receptor expression in juxtaglomerular cells suppresses renin expression independent of parathyroid hormone and calcium. *Kidney Int* 2008;74(12):1577-1581

31. Xiang W, Kong J, Chen S et al. Cardiac hypertrophy in vitamin D receptor knockout mice: role of the systemic and cardiac renin-angiotensin systems. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288(1):E125-132

32. Kong J, Li YC. Effect of ANG II type I receptor antagonist and ACE inhibitor on vitamin D receptor-null mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003;285(1):R255-261

33. Freundlich M, Quiroz Y, Zhang Z et al. Suppression of renin-angiotensin gene expression in the kidney by paricalcitol. *Kidney Int* 2008;74(11):1394-1402

34. McGonigle RJ, Fowler MB, Timmis AB et al. Uremic cardiomyopathy: potential role of vitamin D and parathyroid hormone. *Nephron* 1984;36(2):94-100

35. Kim HW, Park CW, Shin YS et al. Calcitriol regresses cardiac hypertrophy and QT dispersion in secondary hyperparathyroidism on hemodialysis. *Nephron Clin Pract* 2006;102(1):c21-29

36. Bodyak N, Ayus JC, Achinger S et al. Activated vitamin D attenuates left ventricular abnormalities induced by dietary sodium in Dahl salt-sensitive animals. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(43):16810-16815

37. Mancuso P, Rahman A, Hershey SD et al. 1,25-Dihydroxyvitamin-D3 treatment reduces cardiac hypertrophy and left ventricular diameter in spontaneously hypertensive heart failure-prone (cp/+) rats independent of changes in serum leptin. *J Cardiovasc Pharmacol* 2008;51(6):559-564

38. Weishaar RE, Simpson RU. The involvement of the endocrine system in regulating cardiovascular function: emphasis on vitamin D3. *Endocr Rev* 1989;10(3):351-365

39. Weishaar RE, Kim SN, Saunders DE, Simpson RU. Involvement of vitamin D3 with cardiovascular function. III. Effects on physical and morphological properties. *Am J Physiol* 1990; 258(1 Pt 1):E134-142

40. O'Connell TD, Berry JE, Jarvis AK et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 regulation of cardiac myocyte proliferation and hypertrophy. *Am J Physiol* 1997;272(4 Pt 2):H1751-1758.

41. Wu J, Garami M, Cheng T, Gardner DG. 1,25(OH)₂ vitamin D₃ and retinoic acid antagonize endothelin-stimulated hypertrophy of neonatal rat cardiac myocytes. *J Clin Invest* 1996;97(7):1577-1588

42. Li Q, Gardner DG. Negative regulation of the human atrial natriuretic peptide gene by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *J Biol Chem* 1994;269(7):4934-4939

43. Smeets PJ, Teunissen BE, Willemsen PH et al. Cardiac hypertrophy is enhanced in PPAR alpha-/- mice in response to chronic pressure overload. *Cardiovasc Res* 2008;78(1):79-89

44. Ouzounian M, Lee DS, Liu PP. Diastolic heart failure: mechanisms and controversies. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008;5(7):375-386

45. Zittermann A, Schleithoff SS, Tenderich G et al. Low vitamin D status: a contributing factor in the pathogenesis of congestive heart failure? *J Am Coll Cardiol* 2003;41(1):105-112

46. Zittermann A, Schleithoff SS, Gotting C et al. Poor outcome in end-stage heart failure patients with low circulating calcitriol levels. *Eur J Heart Fail* 2008;10(3):321-327

47. Boxer RS, Dauser DA, Walsh SJ et al. The association between vitamin D and inflammation with the 6-minute walk and frailty in patients with heart failure. *J Am Geriatr Soc* 2008; 56(3):454-461

48. Walters MR, Ilenchuk TT, Claycomb WC. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 stimulates 45Ca²⁺ uptake by cultured adult rat ventricular cardiac muscle cells. *J Biol Chem* 1987;262(6):2536-2541

49. O'Connell TD, Berry JE, Jarvis AK et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 regulation of cardiac myocyte proliferation and hypertrophy. *Am J Physiol* 1997;272(4 Pt 2):H1751-H1758

50. O'Connell TD, Giachero DA, Jarvis AK, Simpson RU. Inhibition of cardiac myocyte maturation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Endocrinology* 1995;136(2):482-488.

51. Green JJ, Robinson DA, Wilson GE et al. Calcitriol modulation of cardiac contractile performance via protein kinase C. *J Mol Cell Cardiol* 2006;41(2):350-359

52. Marniemi J, Alanen E, Impivaara O et al. Dietary and serum vitamins and minerals as predictors of myocardial infarction and stroke in elderly subjects. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005;15(3):188-197

53. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003; 107(3):499-511

54. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-126

55. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis: the road ahead. *Cell* 2001;104(4):503-516

56. Mathieu C, Adorini L. The coming of age of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) analogs as immunomodulatory agents. *Trends Mol Med* 2002;8(4):174-179

57. Xing N, L Maldonado ML, Bachman LA et al. Distinctive dendritic cell modulation by vitamin D(3) and glucocorticoid pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;297(3):645-652

58. Carthy EP, Yamashita W, Hsu A, Ooi BS. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and rat vascular smooth muscle cell growth. *Hypertension* 1989;13(6 Pt 2):954-959

59. Timms PM, Mannan N, Hitman GA et al. Circulating MMP9, vitamin D and variation in the TIMP-1 response with VDR genotype: mechanisms for inflammatory damage in chronic disorders? *QJM* 2002;95(12):787-796

60. Goldsmith DJ, Covic A, Sambrook PA, Ackrill P. Vascular calcification in long-term haemodialysis patients in a single unit: a retrospective analysis. *Nephron* 1997;77(1):37-43

61. Milliner DS, Zinsmeister AR, Lieberman E, Landing B. Soft tissue calcification in pediatric patients with end-stage renal disease. *Kidney Int* 1990;38(5):931-936
62. Mathew S, Lund RJ, Chaudhary LR et al. Vitamin D Receptor Activators Can Protect against Vascular Calcification. *J Am Soc Nephrol* 2008;19(8):1509-1519
63. Watson KE, Abrolat ML, Malone LL et al. Active serum vitamin D levels are inversely correlated with coronary calcification. *Circulation* 1997;96(6):1755-1760
64. Zittermann A, Schleithoff SS, Koerfer R. Vitamin D and vascular calcification. *Curr Opin Lipidol* 2007;18(1):41-46
65. Li H, Cybulsky MI, Gimbrone MA Jr, Libby P. An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine-regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. *Arterioscler Thromb* 1993;13(2):197-204
66. Martinesi M, Bruni S, Stio M, Treves C. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits tumor necrosis factor- α -induced adhesion molecule expression in endothelial cells. *Cell Biol Int* 2006;30(4):365-375
67. Weinreich T, Wuthrich RP, Booy C, Binswanger U. Suppression of ICAM-1 expression in renal proximal tubular cells by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Kidney Blood Press Res* 2001;24(2):92-98
68. Kaneko A, Suzuki S, Hara M et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 suppresses the expression of the VCAM-1 receptor, VLA-4 in human leukemic HL-60 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;255(2):371-376
69. Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H et al. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin d and 1,25-dihydroxyvitamin D levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med* 2008;168(12):1340-1349
70. Jorde R, Haug E, Figenschau Y, Hansen JB. Serum levels of vitamin D and haemostatic factors in healthy subjects: the Tromso study. *Acta Haematol* 2007;117(2):91-97
71. Boucher BJ. Inadequate vitamin D status: does it contribute to the disorders comprising syndrome 'X'? *Br J Nutr* 1998;79(4):315-327
72. Harris MI, Flegal KM, Cowie CC et al. Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance in U.S. adults. The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Diabetes Care* 1998;21(4):518-524
73. McKenna MJ. Differences in vitamin D status between countries in young adults and the elderly. *Am J Med* 1992;93(1):69-77
74. McKeigue PM, Marmot MG, Syndercombe Court YD et al. Diabetes, hyperinsulinaemia, and coronary risk factors in Bangladeshis in east London. *Br Heart J* 1988;60(5):390-396
75. Need AG, O'Loughlin PD, Horowitz M, Nordin BE. Relationship between fasting serum glucose, age, body mass index and serum 25 hydroxyvitamin D in postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005;62(6):738-741
76. Baynes KC, Boucher BJ, Feskens EJ, Kromhout D. Vitamin D, glucose tolerance and insulinaemia in elderly men. *Diabetologia* 1997;40(3):344-347
77. Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004;79(5):820-825
78. De Fronzo RA, Alvestrand A, Smith D et al. Insulin resistance in uremia. *J Clin Invest* 1981;67(2):563-568
79. Chen J, Muntner P, Hamm LL et al. Insulin resistance and risk of chronic kidney disease in nondiabetic US adults. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(2):469-477
80. Feneberg R, Sparber M, Veldhuis JD et al. Altered temporal organization of plasma insulin oscillations in chronic renal failure. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(5):1965-1973
81. Levin A, Bakris GL, Molitch M et al. Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. *Kidney Int* 2007;71(1):31-38
82. Chonchol M, Scragg R. 25-Hydroxyvitamin D, insulin resistance, and kidney function in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Kidney Int* 2007;71(2):134-139

Поступила в редакцию 11.11.2008 г.
Принята в печать 10.02.2009 г.

© Я.Ф.Зверев, В.М.Брюханов, В.В.Лампатов, А.Ю.Жариков, 2009
УДК 616.61-003.7-092:546.41

Я.Ф. Зверев¹, В.М. Брюханов¹, В.В. Лампатов¹, А.Ю. Жариков¹

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ КАЛЬЦИЕВОГО НЕФРОЛИТИАЗА

Ya.Ph. Zverev, V.M. Brukhanov, V.V. Lampatov, A.Yu. Jaricov

THE CURRENT VIEWS ON THE ROLE OF PHYSICO-CHEMICAL FACTORS IN PATHOGENESIS OF CALCIUM NEPHROLITHIASIS

¹ Кафедра фармакологии Алтайского государственного медицинского университета, г.Барнаул, Россия

РЕФЕРАТ

В обзоре приводится анализ современных взглядов на патогенез кальциевого нефролитиаза с позиций изменений ряда физико-химических параметров, в том числе, объемов потребляемой и выделяемой жидкости, пересыщения мочи определенными солями, верхней метастабильности и др. Приводятся сведения о действии таких природных ингибиторов кристаллизации как цитрат, магний, фитат, пирофосфат, которые рассматриваются в качестве перспективных средств профилактики рецидивов мочекаменной болезни.

Ключевые слова: кальциевый нефролитиаз, физико-химические факторы риска, природные ингибиторы кристаллизации.

ABSTRACT

In the review were evaluated the modern ways on pathogenesis of calcium nephrolithiasis from the position of the various changes of physico-chemical parameters, such as amount, volume of intake and excreted fluid, the enhancement of the urine with certain salts, top metastability etc. The data on the action of such natural inhibitors of crystallization such as citrate, magnesium, phitad, pyrophosphate, which were viewed as perspective methods of prophylaxis of recurrence of urinary kidney disease were stated.

Key words: calcium nephrolithiasis, physico-chemical risk factors, natural inhibitors of crystallization.

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в последние годы в лечении мочекаменной болезни (МКБ), до сих пор сохраняется целый ряд серьезных проблем, разрешить которые пока не удастся. Как известно, основные достижения последних лет связаны с воздействием на уже образовавшиеся мочевые конкременты, что, к сожалению, не имеет отношения к причинам и патогенетическим механизмам развития болезни. Поэтому, как правило, радикального излечения не происходит. Исходя из этого, становится ясно, насколько важно понимание основных звеньев патогенеза МКБ, обуславливающих процесс литогенеза, что, в свою очередь, дает основания для поиска новых терапевтических мишеней и стратегий лечения.

В последние десятилетия зафиксирован существенный рост МКБ, особенно в странах цивилизованного мира. Сегодня здесь до 10% населения страдает от почечных камней, причем наиболее подвержены нефролитиазу белые мужчины (12-

15%). Установлено, что болезнь часто рецидивирует. Так, в пределах 1 года новые конкременты выявляются в среднем у 10%, в интервале 5 лет – у 35%, в пределах 10 лет – у 50% пациентов [1,2]. При этом 80% образовавшихся почечных камней представляют собой кальций-содержащие конкременты: оксалаты и фосфаты кальция. Оксалаты кальция, в свою очередь, подразделяются на кальция оксалата моногидрат, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (СОМ, вевеллит) и кальция оксалата дигидрат, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (СОД, ведделлит). Камни, содержащие фосфат кальция, присутствуют в моче в виде апатитов: чаще – кальция фосфата основного, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3 \cdot \text{OH}$ (гидроксилапатит) и кальция гидрофосфата, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (брушит) [3].

С чего начинается процесс образования Са-содержащих почечных камней? На этот счет единого мнения до сих пор нет. Давно известно, что моча представляет собой пересыщенный раствор, который в определенных условиях подвергается процессу кристаллизации. Анализ этих условий и посвящен данный обзор.

Со второй половины XIX века существует так

Зверев Я.Ф. Алтайский медицинский университет, кафедра фармакологии, 656038, г.Барнаул, пр.Ленина, 40, тел.: (3852) 26-08-35; E-mail: zver@asmu.ru

называемая кристаллизационная теория камнеобразования (Heller, 1861; Ulzman, 1890), интерес к которой периодически вспыхивает, а затем, как правило, затухает [3,4]. Не подвергается сомнению, что гиперкальциурия и гипероксалурия являются этиологическими факторами камнеобразования [5]. В то же время, оба эти фактора часто присутствуют в моче здоровых людей, что однако не приводит к инициированию кристаллизации и формированию конкрементов. И все же, образование пересыщенной в отношении оксалатов и фосфатов кальция мочи, как правило, является необходимым условием спонтанного формирования кристаллического ядра (нуклеация) с последующей агрегацией и осаждением кристаллов и ростом почечных конкрементов. Однако к утверждениям типа «... не всегда пересыщение мочи ведет к камням, но всегда при образовании камней моча пересыщена...» также следует относиться с осторожностью, поскольку существуют клинические наблюдения, согласно которым у ряда пациентов с оксалатными, фосфатными и уратными камнями, рецидивирующими на момент обследования, пересыщение соответствующими солями отсутствовало или его величина была незначительной [6]. Правда, цитируемые авторы находят объяснение в том, что отмеченный феномен обусловлен изменением ситуации между временем появления камней и моментом сбора мочи, производимым на фоне интенсивного лечения, которое обусловило значительное повышение объема мочи и снижение экскреции кальция.

Для того, чтобы определить физико-химические закономерности, обеспечивающие процесс кристаллизации, в свое время был предложен ряд соответствующих характеристик состояния мочи, из которых наиболее важное значение приобрели коэффициент пересыщения (SS) и верхняя граница метастабильности (ULM). Первый показывает отношение концентрации в моче определенной соли к ее растворимости (к ее концентрации при насыщении) [7-9]. Если этот коэффициент превышает 1, создаются условия для образования и роста кристаллов, и такая моча называется метастабильной. А избыток конкретной кальциевой соли, превышающий величину ее растворимости, и обеспечивает осаждение. Добавляя соли кальция к моче, можно найти величину SS, необходимую для преципитации, т.е. образования плотной фазы оксалата или фосфата кальция. Эта величина называется верхней границей метастабильности (ULM) и варьируется, как правило, пропорционально изменениям SS [10]. Кроме того, был предложен показатель «допустимого прироста» для кальция и оксалата. Он

представляет собой дополнительную величину Са, оксалата и брусшита, которая должна быть добавлена к моче для обеспечения спонтанной преципитации соответствующих солей [11].

Результаты экспериментов показывают, что пересыщение мочи само по себе уже является фактором, инициирующим образование мочевых камней. По крайней мере, увеличение потребления с пищей кальция или фосфора приводило к пересыщению мочи гиперкальциурических крыс фосфатом кальция и образованию у них соответствующих конкрементов [10,12]. Многочисленные экспериментальные данные, полученные как *in vitro*, так и *in vivo*, показали, что уровень пересыщения мочи кальциевыми солями у гиперкальциурических животных и пациентов с нефролитиазом существенно повышается. Причем величина пересыщения подвергается значительным циркадным колебаниям, что может обеспечить появление нескольких пиков преципитации на протяжении суток [13,14]. Интересно, что концентрация кальциевых солей по ходу продвижения мочи вдоль нефрона существенно изменяется. С помощью современных методов математического моделирования установлено, что профильтровавшаяся моча, как правило, недонасыщена в отношении концентрации оксалата кальция (CaOx) и сохраняется таковой вплоть до конечных отделов проксимальных канальцев нефрона. Затем в связи с интенсивной реабсорбцией воды в нисходящем отделе петли Генле моча становится резко пересыщенной оксалатом кальция, что создает условия здесь для нуклеации и кристаллизации, особенно в условиях гипероксалурии. Далее пересыщение падает из-за реабсорбции солей в восходящем отделе петли Генле, и на коротком участке дистального канальца моча вновь становится недонасыщенной с тем, чтобы в собирательных трубках стать вновь резко пересыщенной, что обуславливает здесь процесс спонтанной кристаллизации [15].

Итак, на фоне образования пересыщенной мочи создаются условия для спонтанной нуклеации, т.е. образования первичного кристаллического ядра. Это ядро становится центром последующей агрегации и роста кристаллов с их адгезией к стенкам почечных канальцев. При этом кристаллизация может быть гомогенной, когда в процесс вовлекаются те же химические соединения, из которых состоит ядро нуклеации, или гетерогенной, обусловленной осаждением веществ другого химического состава со сходной кристаллической решеткой. Давно замечено, что в подавляющем большинстве случаев формирования кальциевых камней процесс начинается с образования кальций-

фосфатного ядра (гидроксилапатит, брушит), вокруг которого затем происходит отложение кальций-оксалатных солей COM и COD [16]. Установлено, что в моче пациентов с гипероксалурией коэффициент SS в отношении оксалата кальция редко превышает 30. По мнению ряда авторов, такая величина пересыщения создает условия главным образом для гетерогенной нуклеации. Для осуществления гомогенной нуклеации необходим более высокий коэффициент SS в отношении CaOx , по расчетам превышающий 80 [17,18].

В экспериментах с использованием образцов отцентрифугированной и профильтрованной суточной мочи людей контролировали процесс образования кристаллов при добавлении оксалата натрия и хлорида кальция в количествах, достаточных для образования кристаллов CaOx [18]. Оказалось, что уровень кристаллизации в этих условиях был количественно и качественно связан с величиной пересыщения мочи относительно оксалата кальция. При SS CaOx , равном 10, фиксировалось формирование мелких кристаллов одинаковой формы, морфологически представляющих собой COD. При повышении SS до 30 отмечалось резкое возрастание количества таких же кристаллов. Когда же величина SS для оксалата кальция превосходила 50, регистрировалось образование более крупных кристаллов различной формы и множество агрегатов кристаллов. Важно отметить, что до величины SS 10 моча сохраняла толерантность к формированию кристаллов оксалата кальция, несмотря на значительную степень пересыщения. Подобные закономерности были зафиксированы ранее в экспериментах *in vitro* при моделировании мочи с помощью буферных растворов [19]. Важное (в первую очередь диагностическое) значение имеет выявленное соответствие пересыщения мочи определенными солями составу образующихся почечных камней. Причем величина пересыщения мочи без лечения, как правило, остается умеренно стабильной на протяжении месяцев и даже лет [20,21].

Одновременно для оксалата кальция была установлена определенная связь между уровнем пересыщения мочи и верхней границей метастабильности [22]. Оказалось, что ULM по непонятной пока причине варьируется с изменениями SS. В экспериментах на здоровых крысах переход с низко-кальциевой (0,02% Ca) на высоко-кальциевую диету (1,2% Ca) приводил к увеличению SS CaOx с 0,8 до 8,2. Параллельно наблюдался рост верхней границы метастабильности с 11,8 до 36,0 [10]. Одновременно в приведенном исследовании были использованы инбредные крысы линии GHS, со-

зданные специально для изучения экспериментального кальциевого нефролитиаза и экскретирующие в 8-10 раз больше кальция, чем нормальные животные [23]. Оказалось, что и у этих крыс качественно выявлялась сходная закономерность, имевшая, впрочем, количественные отличия. Изменение диеты у GHS крыс приводило к росту как SS для оксалата кальция (с 1,5 до 12,0), так и ULM (с 17,0 до 50,0). Аналогичные взаимоотношения были зафиксированы и у 50 пациентов с оксалатным нефролитиазом [24]. Однако в отношении фосфата кальция такая закономерность оказалась нарушенной. В приведенных выше экспериментах [10] изменение кальциевой диеты приводило к увеличению SS в отношении CaP как у нормальных (с 0,6 до 2,4), так и у GHS крыс (с 1,1 до 8,0). А вот величина ULM при этом существенно не изменялась: 8 против 7 и 7 против 11 соответственно. Такая же картина прослеживалась и у людей.

Таким образом, по-видимому, увеличение SS CaOx сопровождается соответствующим повышением верхней границы метастабильности для оксалата кальция, что позволяет почке избегать риска образования первичных оксалатных камней. Отсутствие же подобного параллелизма в отношении фосфата кальция в условиях повышения его концентрации уменьшает промежуток между SS и ULM для CaP , обуславливая высокий риск кристаллизации как у крыс, так и у людей. Этот факт позволил высказать предположение, согласно которому описанная выше закономерность параллельного роста SS и ULM в отношении CaOx защищает от формирования оксалатных камней, если не присутствует ядро нуклеации, образованное гораздо более легко осаждаемыми кристаллами фосфата кальция [25]. Одновременно в ряде исследований было показано, что у пациентов с оксалатным нефролитиазом расстояние между уровнем пересыщения и верхней границей метастабильности относительно CaOx все же несколько снижено по сравнению со здоровыми лицами. Так, в клинических экспериментах, включавших наблюдение за мужчинами и женщинами с оксалатными камнями почек, показано снижение ULM относительно SS не только для фосфата, но и оксалата кальция [8,11,26,27]. В любом случае, из приведенных данных следует, что показатели пересыщения и верхней границы метастабильности в отношении кальциевых солей у пациентов с нефролитиазом являются важными характеристиками формирования почечных камней у человека.

Появились также сведения, указывающие на то, что высокое пересыщение оксалатом кальция само по себе оказывает повреждающее воздей-

ствие на почечную ткань. В экспериментах на крысах Sprague-Dawley, на протяжении 4 недель получавших в виде питья 1%-ный раствор этиленгликоля, наряду с явными признаками нефролитиаза (повышение мочевой экскреции оксалата, пересыщение мочи оксалатом кальция, развитие кристаллурии, появление кальциевых депозитов) выявлялась картина тубулоинтерстициального повреждения. Морфологическое исследование почек показало наличие воспалительных инфильтратов, содержащих значительные количества моноцитов, макрофагов, уровня коллагена III типа и TGF бета 1, а также явлений интерстициального фиброза. Анализ показал наличие высокой степени корреляции между мочевым SS CaOx и параметрами тубулоинтерстициального повреждения [14]. Сходные результаты были получены и в нашей лаборатории, когда развитие экспериментального оксалатного нефролитиаза сопровождалось выраженной ферментурией и активацией свободно-радикального окисления в почках [28,29]. Попутно заметим, что приведенные данные имеют прямое отношение к острой дискуссии, развернувшейся в последние годы на страницах печати относительно наличия или отсутствия прямой связи между процессами литогенеза и повреждения почечного эпителия, что будет более подробно проанализировано нами в свое время.

Существует ряд факторов, изменяющих показатели пересыщения мочи, а значит способных повлиять на процесс кристаллизации и формирования почечных камней. Одним из таких факторов является объем протекающей по канальцам почек жидкости.

Естественным способом уменьшения пересыщения мочи является попытка увеличения ее объема с помощью повышения потребления жидкости. И действительно, водная нагрузка, даваемая людям, наряду с ростом диуреза приводит к параллельному снижению пересыщения мочи оксалатом кальция [30]. Потребление 500 мл минеральной воды на ночь обусловило повышение 8-часового диуреза как у здоровых лиц, так и у пациентов с оксалатным нефролитиазом: с 307 до 572 мл и с 266 до 518 мл соответственно. Показатель SS при этом снижался соответственно с 8,7 до 5,1 и с 10,4 до 5,0. Однако в соответствии с закономерностью, выявленной J.R.Asplin и соавт. [10], одновременно наблюдалось некоторое снижение верхней границы метастабильности: с 21,6 до 20,5 мг/л у контрольных лиц и с 18,7 до 17,1 мг/л у пациентов с оксалатным нефролитиазом. По мнению цитируемых авторов [30], это снижение ULM обусловлено параллельно возникающим разбавлением есте-

ственных ингибиторов нуклеации. Таким образом, разведение мочи, индуцированное водной нагрузкой, инициирует двойной эффект: снижение пересыщения CaOx, что обуславливает рост толерантности к оксалатной нагрузке с одной стороны, и одновременное уменьшение относительного содержания ингибиторов кристаллизации, что обеспечивает тенденцию к снижению верхней границы метастабильности. Ради справедливости отметим, что в еще более раннем исследовании водная нагрузка, индуцированная потреблением дистиллированной воды, наряду со снижением величины пересыщения CaOx в суточной моче сопровождалась значительным ростом верхней границы метастабильности [22]. В любом случае, следует признать, что водная нагрузка является протективным мероприятием у пациентов с оксалатным нефролитиазом, поскольку приводит к снижению пересыщения мочи оксалатом кальция.

Долгосрочное наблюдение за пациентами с кальциевым нефролитиазом показало, что лица, потреблявшие ежедневно на протяжении 5 лет повышенное количество воды, дали значительно меньшее число рецидивов образования конкрементов в сравнении с теми, чей питьевой режим не изменялся: 12 из 99 против 27 из 100 пациентов соответственно [31]. При этом средний интервал возникновения повторных камней составил в первой группе в среднем 38,7 месяцев, а во второй – 25, 1 месяца. Параллельно в группе больных, потреблявших большее количество воды, резко снижались показатели пересыщения оксалатом кальция, брусшитом и мочевой кислотой. Подобные результаты были получены и в других клинических исследованиях. Причем показано, что потребление мягкой воды оказывает более благоприятный эффект. По крайней мере, у 18 пациентов с идиопатическим нефролитиазом потребление 2 л мягкой воды (содержание Ca^{2+} – 22 мг/л) на протяжении лишь одной недели привело к 50%-ному снижению содержания ионов кальция в моче в сравнении с показателем, зафиксированным у этих же лиц в результате потребления более жесткой воды, содержащей 255 мг/л Ca^{2+} [32]. Интересно, что, по мнению некоторых авторов, на фоне высокого потребления жидкости отнюдь не происходит снижения активности природных ингибиторов литогенеза, о чем мы упоминали выше [33]. А вид потребляемой жидкости, как полагают эти же авторы, не имеет принципиального значения, поскольку положительный эффект при кальциевом нефролитиазе был получен на фоне приема кофе, чая, пива и вина. Так что, по их мнению, и сегодня высокое потребление жидкости, особенно воды, ос-

тается наиболее мощным и экономичным средством предупреждения кристаллизации, хотя, к сожалению, часто не используется пациентами.

Как выяснилось относительно недавно, от объема потребляемой жидкости в значительной степени зависит состояние здоровья людей в условиях воздействия невесомости. Сегодня хорошо известно, что факторами риска космического полета наряду с потерями костной ткани, сердечно-сосудистыми изменениями и мышечной атрофией является активация литогенеза. Установлено, что у ряда астронавтов и космонавтов даже при кратковременном пребывании в невесомости происходит пересыщение мочи камнеобразующими солями, ведущее к образованию мочевых камней и в послеполетный период [34,35]. Не удивительно, что этот эффект пересыщения оксалатом кальция, брусничом, уратами и струвитом был обратно пропорционален объему потребленной жидкости и выделенной мочи. Показано, что выделение более 2 л мочи в сутки существенно снижает риск нефролитиаза, который достигает наибольшей степени у тех астронавтов, суточный диурез которых не превышает 1 л [36].

Примечательно, что описанные клинические данные получили подтверждение в экспериментах *in vitro*. Так, при разбавлении мочи, собранной у пациентов с СаОх-нефролитиазом, и внесением в нее 1,3 ммоль/л оксалата процесс кристаллизации был значительно менее выражен, чем в неразведенной моче. При этом происходило уменьшение образования кристаллов COD и COM, общего количества кристаллических агрегатов и индекса агрегации, отражающего величину зоны, занятой агрегатами кристаллов [37]. Важно отметить, что в другой работе этих же исследователей известные ингибиторы кристаллизации магний и цитрат по не совсем понятной причине уменьшали общее количество кристаллов и их агрегатов лишь в условиях разбавленной мочи [38].

В то же время, нельзя не упомянуть и об исследованиях, ограничивающих неумеренный порой оптимизм в отношении потребления больших объемов жидкости при нефролитиазе [39]. Во-первых, большое исследование, охватившее 2877 пациентов с нефролитиазом, показало, что в результате лечения подавляющему большинству больных удастся повысить средне-суточное выделение жидкости не более чем на 0,3 л, чего явно недостаточно для достижения желаемого эффекта. Во-вторых, повышение объема выпитой воды, как правило, приводит к увеличению вторичного потребления Na^+ и Ca^{2+} , повышение концентрации которых в моче отчасти нивелирует эффект водной

нагрузки. Таким образом, врач должен добиваться большего повышения объема выпиваемой жидкости и одновременно быть бдительным в отношении увеличения потребления солей вслед за водной нагрузкой.

По всей вероятности, снижение верхней границы метастабильности, наблюдаемое у пациентов с нефролитиазом, как и инициирование процесса кристаллизации, возникает при нарушении равновесия между пересыщением мочи камнеобразующими солями и находящимися в моче природными факторами ингибирования кристаллизации. К таким факторам относятся цитрат, магний, фитат и пирофосфат.

Обследование 79 пациентов с идиопатическим кальциевым нефролитиазом, проведенное недавно в Таиланде, показало, что 69,6% из них составили лица со сниженной концентрацией цитрата в моче, а наиболее частой комбинацией факторов риска явилась гипоцитратурия + низкий объем выделяемой мочи, зафиксированный у 8,9% пациентов [40]. При этом у отмеченных лиц было существенно увеличено соотношение мочевого кальция к мочевому цитрату и показатель пересыщения в отношении оксалата кальция по сравнению с показателями здоровых людей. Сходные результаты были получены и другими клиницистами. У многих из обследованных 50 индийских детей разных возрастов (от 1 до 12 лет) экскреция цитрата, определявшаяся в порциях 24-часовой мочи, оказалась резко сниженной по сравнению с показателями 150 здоровых детей. Причем наибольшие отличия фиксировались у мальчиков, как и образование почечных камней [41]. Интересно, что с возрастом экскреция цитрата с мочой несколько возрастала, но все же была, как правило, существенно ниже, чем в контрольной группе. Таким образом, можно считать установленным, что важнейшим фактором риска возникновения кальциевых камней является гипоцитратурия, частота которой колеблется по разным данным в пределах 30-70% пациентов с кальциевым нефролитиазом [40,42-44].

Способность цитрата ослаблять процесс кристаллизации в моче нашла подтверждение в ряде экспериментальных исследований, проведенных *in vitro*. При выращивании на протяжении как минимум 24 дней кальций-оксалатных камней в искусственной моче добавление 2 и 6 ммоль/л цитрата приводило к существенному замедлению скорости роста конкрементов, превышавшему 50% при использовании большей концентрации цитрата [45]. Одновременно наблюдалось достоверное снижение концентрации ионизированного кальция в сре-

де роста камней и увеличение рН примерно на 0,07 ед. Примечательно, что аналогичные закономерности выявлялись не только в процессе агрегации кристаллов и роста камней, но и на более ранних стадиях литогенеза, т.е. во время нуклеации кристаллов [46,47]. В другой работе добавление цитрата ослабляло рост и агрегацию кристаллов CaOx , инициируемых *in vitro* смешиванием растворов, содержащих CaCl_2 и NaOx [48]. Аналогичный эффект цитрата фиксировался и в отношении агрегации кристаллов гидроксилатапата. В растворе, имитирующем мочу дистальных канальцев почек, цитрат в диапазоне концентраций 0,05–4 ммоль/л оказывал прямой зависимый от концентрации ингибирующий эффект [49]. Добавление цитрата к образцам 24-часовой мочи здоровых мужчин приводило к существенному росту верхнего лимита метастабильности в отношении фосфата кальция, что подтверждалось изменением оптической плотности мочи при добавлении Са или Р [50]. При этом показатель ULM возрастал на 0,4 единицы на 1 ммоль цитрата на литр. Интересно, что, в отличие от цитрата, добавление кальция и фосфора не влияло на величину показателя метастабильности и лишь сдвиг рН мочи в щелочную сторону (с 5,9 до 6,4) изменял ULM сходным образом. Здесь следует отметить, что синергистический эффект цитрата и щелочного сдвига рН был показан и другими исследователями [51], что указывает на целесообразность сочетания этих факторов в предупреждении формирования кальций-оксалатных камней. Эти наблюдения позволили рекомендовать широкое применение щелочного цитрата при нефролитиазе [45,52]. В то же время, здесь следует проявлять определенную осторожность, имея в виду, что сдвиг рН мочи в щелочную сторону может способствовать образованию камней, содержащих фосфат кальция [53]. Отметим также точку зрения, согласно которой эффект цитрата *in vitro* проявляется только в условиях разведенной мочи, а при создании концентрированной мочи – отсутствует [38]. Этой точке зрения соответствуют данные, полученные при исследовании большого количества образцов мочи, собранной у 4809 пациентов с оксалатным нефролитиазом и у 317 контрольных лиц [54]. Оказалось, что увеличение содержания цитрата в моче с 0,5 до 5,0 ммоль/л снижало частоту кристаллизации с 32,4 до 10,1%. Однако эта закономерность прослеживалась лишь при концентрации оксалата кальция в моче на уровне 1–2 ммоль/л. Когда же этот показатель превосходил 3 ммоль/л, увеличение экскреции цитрата с мочой не оказывало дальнейшего влияния на частоту кристаллизации. Таким образом, как и в пре-

дыдущем исследовании, авторы делают вывод, согласно которому эффективность цитрата обратно пропорциональна концентрации оксалата кальция в моче и проявляется лишь в условиях выделения повышенного объема мочи. Интересно, что и в ряде других экспериментов *in vitro* ингибирующий потенциал цитрата не зависел от изменений его концентрации. Очевидно, максимальный эффект цитрата в отношении кристаллизации оксалата кальция *in vitro* достигается при миллимолярных, сходных с естественными, концентрациях, и дальнейшего прироста не наблюдается [46,55]. По-видимому, такие концентрации цитрата обеспечивают два основных эффекта в отношении вновь образующихся *in vitro* частиц CaOx : преципитацию значительно меньших кристаллов и ослабление образования их агрегатов [46,56].

Весьма неожиданные данные, касающиеся благоприятного эффекта цитрата не так давно были получены *in vitro* на клеточных культурах [57]. На фоне взаимодействия ионов оксалата или кристаллов оксалата кальция с культурами почечных клеток линий LLC-PK1 и MDCK добавление цитрата сопровождалось снижением высвобождения в среде лактатдегидрогеназы, уменьшением продукции перекиси водорода и увеличением содержания глутамата. Представленные результаты трактуются авторами как протективное действие цитрата в отношении активации процесса липидной пероксидации, индуцируемой оксалатом и кристаллами CaOx , что указывает на полезность применения препаратов лимонной кислоты при кальций-оксалатном нефролитиазе.

Почти 30 лет назад была выстроена концепция относительно комплекснообразующего действия цитрата [58]. Согласно этой концепции цитрат связывает в моче свободный ионизированный кальций, а уменьшение концентрации последнего обеспечивает снижение степени пересыщения кальциевых солей. Кроме того, взаимодействуя с соединениями кальция в образующихся или уже образовавшихся мочевых кристаллах, цитрат предотвращает или замедляет их рост [59]. Естественно, что снижение концентрации свободного кальция должно обусловить соответствующее повышение содержания соединений, в состав которых входит связанный кальций. По всей вероятности, таким соединением является кальций-цитрат-фосфатный комплекс $[\text{CaCitPO}_4]^{4-}$, концентрация которого при применении минеральной воды, содержащей цитрат, значительно возрастала как у пациентов, так и у здоровых лиц [60]. Образование $[\text{CaCitPO}_4]^{4-}$ возникает как результат депротонизации H_2PO_4^- и HPO_4^{2-} в условиях относительно высокого рН. Это

и приводит к снижению количества свободных ионов Ca^{2+} , потенциально «предназначенных» для связывания с оксалатом и фосфатом [61]. Представляется важным, что весь этот процесс происходит лишь в определенном диапазоне pH (6,07-7,50). Это позволило цитируемым авторам высказать предположение о том, что образование вышеупомянутого кальций-цитрат-фосфатного комплекса в моче даже в большей степени зависит от повышения pH, чем от концентрации цитрата.

Использование атомно-силовой микроскопии *in situ* совместно с методом молекулярного моделирования показало, что наиболее важными факторами, определяющими силу связывания цитрата с кристаллами кальция оксалата моногидрата, являются связывание COO^- группировки цитрата с кальцием кристаллической решетки, а также водородные связи, возникающие между ОН-группой цитрата и оксалатной группой [62-64]. При этом воздействие осуществляется преимущественно на (101) грани образующихся кристаллов, изменяя их морфологию и кинетику, что обуславливает снижение их поверхностной энергии [62].

Таким образом, из вышеизложенного следует, что процесс кристаллизации при оксалатном нефролитиазе в значительной степени определяется содержанием в моче солей лимонной кислоты и уровнем pH окружающей среды. Сдвиг pH в кислую сторону и гипоцитратурия создают условия для преципитации оксалата кальция с последующим образованием почечных камней. Противоположная ситуация, обусловленная повышением pH мочи и гиперцитратурией, напротив, зачастую предупреждает литогенез.

Итак, гипоцитратурия является фактором риска развития нефролитиаза и выявляется более чем у 50% пациентов с мочекаменной болезнью [59,65,66]. При этом установлено, что гипоцитратурия обусловлена отнюдь не снижением желудочно-кишечной абсорбции цитрата, что навело на мысль о возможных нарушениях его почечного транспорта [67]. Относительно недавно выяснилось, что этот процесс обеспечивается Na^+ /дикарбоксилат котранспортером-1 (NaDC-1), который экспрессирован на апикальной мембране клеток проксимальных канальцев и осуществляет здесь реабсорбцию цитрата, а также сукцината и α -кетоглутарата [68,69]. Изучение возможной роли NaDC-1 в развитии нефролитиаза показало, что в почках крыс, получавших этиленгликоль, повышение экспрессии NaDC-1 и его мРНК сочеталось с уменьшением экскреции цитрата с мочой. Введение же животным цитрата калия существенно облегчало течение экспериментальной патологии,

значительно снижая экспрессию NaDC-1 (и его мРНК) и повышая содержание цитрата в моче [70]. В исследовании японских авторов показано, что мутация гена hNaDC-1 сочеталась у пациентов с нефролитиазом со снижением мочевой экскреции цитрата, что могло обусловить развитие гипоцитратурии и нефролитиаза [71].

Таким образом, экспрессия Na^+ /дикарбоксилат котранспортера-1 может играть важную роль в развитии кальциевого нефролитиаза.

Давно обсуждается роль мочевого Mg и магний-содержащих препаратов в образовании кальциевых камней. Известно, что у 25-30% пациентов с кальциевым нефролитиазом фиксируется гипомагниурия и снижение в моче соотношения $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ [72,73]. Соответственно, увеличение содержания Mg^{2+} в моче должно препятствовать развитию кальциевой кристаллизации. Такие сведения существуют, хотя, отметим сразу, они убеждают далеко не всех, несмотря на то, что история применения солей магния при мочекаменной болезни берет свое начало с 17-18 столетий. Прием Mg в дозе 500 мг/сутки в форме $\text{Mg}(\text{OH})_2$ на протяжении 4 лет пациентами с рецидивирующими кальциевыми камнями и без признаков дефицита магния привело к целому ряду благоприятных изменений [74]. Частота рецидивов образования почечных конкрементов снижалась в 10 раз (с 0,8 до 0,08 камня/год на одного пациента). У 85% больных на протяжении периода наблюдения не было зафиксировано образования новых камней, тогда как в контрольной группе пациентов, не получавших магний, у 59% выявлялось образование новых почечных камней. Сходные результаты были получены и в другом более позднем исследовании с привлечением пациентов с низкой мочевой экскрецией Mg^{2+} [75]. В этой работе частота рецидивов снижалась с 0,75 до 0,11 камня/год на одного человека после приема 500 мг/сутки $\text{Mg}(\text{OH})_2$ на протяжении 3, 12 и 18 месяцев. При этом образование кальций-оксалатных почечных камней снижалось главным образом за счет уменьшения мочевой концентрации оксалата, но не кальция. Авторы склонны объяснить это снижением кишечной абсорбции оксалата благодаря образованию в кишечнике нерастворимого и абсорбируемого оксалата магния. В тоже время, получен ряд косвенных данных, указывающих на участие магния в образовании камней непосредственно в почках. В экспериментах на крысах, получавших магний-дефицитную диету, внутриканальцевые отложения кальция оксалата моногидрата выявлялись уже через 24 часа после начала потребления 1%-ного этиленгликоля с питьевой водой. А у животных, не

имевших дефицита магния, внутриканальцевые отложения не обнаруживались и после 11 дней потребления этиленгликоля [76]. Приведенные авторами зафиксировали появление полосок клейковидного материала, происходящего от апикальной мембраны почечного канальца и прилипающего к кристаллам, способствуя за счет этого иммобилизации последних внутри канальцев. В других недавно проведенных экспериментах на крысах длительное применение различных солей магния вызывало существенное снижение уровня кальция и фосфатов в плазме крови и моче, а также ослабление выраженности кристаллурии у животных, получавших высоко-кальцевую диету. При этом наибольшим эффектом обладали магния L-аспарагинат, его сочетанное введение с витамином B₆ и комбинированный препарат, содержащий лактат магния и витамин B₆ [77]. В исследовании, проведенном *in vitro*, была изучена возможная роль взаимодействия образующихся кристаллов с магнием в условиях, приближенных к мочевым. Производили мониторинг развития отдельного кристалла кальция оксалата моногидрата, помещенного на 1 год в раствор магния гексагидрата. Оказалось, что в этих условиях не происходило сколько-нибудь значимого инкорпорирования Mg в структуру вееллита. Вместо этого магний адсорбировался на поверхности кристалла в соответствии с силами электрического взаимодействия и препятствовал адгезии кристаллов СОМ на культивируемых почечных клетках [78]. Это наблюдение позволило авторам предположить наличие поверхностного взаимодействия Mg²⁺ с кристаллами, препятствующего их дальнейшему контакту с молекулами, заякоренными на клеточной поверхности. В других экспериментах *in vitro* добавление магния независимо от концентрации ингибировало нуклеацию кристаллов СаОх, инициированную смешиванием СаCl₂ и NaОх при pH 5,7 и температуре 37°C [48].

И все же, в последние годы в отношении значимости прямого ингибирующего влияния магния на образование кальциевых камней преобладает скептическая точка зрения. Во-первых, в целом ряде исследований не удалось продемонстрировать подавления формирования почечных конкрементов при добавлении Mg к пище у пациентов с нефролитиазом [79-81]. В то же время, сочетанное применение магния и цитрата калия дает, как правило, благоприятный аддитивный эффект как в экспериментах *in vitro*, так и в клинических исследованиях [82,83]. Так, добавление к диете смешанной соли, включавшей K, Mg и цитрат, на 90% уменьшало частоту рецидивирования кальциевых камней [81]. Выяснилось, что использование такого комплекса

способствует увеличению концентрации в моче цитрата, что обуславливает более активное хелатирование мочевого кальция. В результате этого уменьшается величина пересыщения мочи оксалатом кальция, создаются условия, способствующие сдвигу pH мочи в щелочную сторону, что значительно снижает риск образования кальций-оксалатных конкрементов [80-84].

Более определенные сведения касаются способности ингибировать образование кальциевых камней у солей фитиновой кислоты – фитатов. Правда, сразу отметим, что этих сведений не так уж много, и представлены они главным образом одним коллективом авторов из Лаборатории исследования почечного литиаза Университета Балеарских Островов (Испания) под руководством проф. F.Graes. Эксперименты, поставленные *in vitro* и *in vivo*, а также клинические наблюдения показали, что фитат (инозитол гексафосфат) играет значительную роль в ингибировании кристаллизации кальциевых солей в моче и может рассматриваться как важный фактор в предупреждении и лечении нефролитиаза [85]. Показано, что у пациентов с кальций-оксалатными камнями почек экскреция фитата с мочой значительно ниже, чем у здоровых добровольцев, а строгое ограничение фитата в диете приводит к быстрому 50%-ному снижению его экскреции с мочой [86]. Сходные результаты были получены и на животных. В почках самцов крыс с нефролитиазом, инициированным применением этиленгликоля, получавших фитиновую кислоту, количество депозитов в области кончика почечного сосочка и общее содержание кальция в папиллярной ткани были значительно меньшими, чем у контрольных животных, потреблявших этиленгликоль без какого-либо лечения [87]. Аналогичный эффект фитата был зарегистрирован не только в почечной ткани, но и в синтетической моче, где фитат в концентрации 1,5 мг/л ингибировал отложение кальция оксалата моногидрата на поверхности фрагментов гидроксилатапатитных камней [88]. В другом недавнем исследовании, проведенном учеными из Великобритании, было показано, что фитат снижал содержание ионизированного кальция в искусственной и цельной моче, повышал лимит метастабильности в отношении СаОх и подавлял *in vitro* скорость роста кальциевых камней [89]. Интересно, что в последней работе не было выявлено четкого соответствия между отмеченными эффектами фитата: т.е. ингибирование фитатом кристаллизации не зависело от снижения концентрации ионизированного кальция, а угнетение роста конкрементов не было связано с подавлением кристаллизации.

Как бы то ни было, ингибирующее действие фитиновой кислоты и ее солей на развитие кальциевого нефролитиаза представляется весьма интересным и перспективным и нуждается в глубоком и всестороннем изучении в ближайшем будущем в условиях многоцентровых рандомизированных испытаний.

В 60-х годах прошлого века появились первые сообщения о благоприятном эффекте пирофосфата при кальциевом нефролитиазе [90]. Как известно, пирофосфат является продуктом гидролиза АТФ при участии нуклеозид трифосфат дифосфогидролазы (NTPD) или нуклеозид пирофосфат фосфодиэстеразы (NPP) и играет ключевую роль в контроле за костной минерализацией, ослабляя процесс отложения гидроксилапатита в костях [91]. Поэтому естественным выглядело предположение о возможности аналогичного действия пирофосфата и в почках [90,92]. И действительно, уже первые клинические наблюдения показали, что в группе из 107 пациентов с рецидивирующим кальцием нефролитиазом 48% имели сниженное содержание пирофосфата в моче [93]. В ряде других клинических исследований также было выявлено уменьшение мочевой экскреции пирофосфата у пациентов с кальциевыми камнями [94-96].

Прямые эксперименты *in vitro* подтвердили, что пирофосфат ингибирует кристаллизацию за счет связывания с поверхностью кристаллов фосфата кальция и подавления посредством этого их дальнейшего роста [97-99]. Одновременно было установлено, что ингибирующее действие пирофосфата проявляется при мочевых концентрациях, близких к естественным, сопоставимо с эффектом других ингибиторов кристаллизации и проявляет синергизм с цитратом [98-100].

Параллельно выяснялся вопрос об источниках происхождения пирофосфата в дистальных отделах нефрона, где осуществляется его воздействие на кристаллизацию апатитов. Дело в том, что практически весь пирофосфат, попадающий в проксимальный почечный каналец в результате фильтрации в клубочке, гидролизует до неорганического фосфата присутствующими здесь щелочными фосфатазами [91,101]. Поэтому важным событием явилось установление факта синтеза пирофосфата в пределах дистальных отделов нефрона, где был обнаружен весь набор ферментов, обеспечивающих гидролиз АТФ с образованием пирофосфата. Здесь же был идентифицирован переносчик ANK (progressive ankylosis protein), аналогичный протеину, осуществляющему транспорт пирофосфата в костной ткани [102-106]. Примечательно, что в экспериментах на мышах показано, что му-

тация гена ank не только нарушает процесс минерализации скелета, но также обуславливает почечную кальцификацию [107].

Сходные результаты были получены и при использовании бифосфонатов. Бифосфонаты являются синтетическими аналогами эндогенного пирофосфата, которые применяются преимущественно с целью подавления костной резорбции. Использование в нефрологической клинике одного из бифосфонатов натрия алендроната в лечении рецидивирующего нефролитиаза, сочетающегося с гиперкальциемией и сопутствующей потерей костной массы, показало неплохую терапевтическую эффективность [108]. На фоне хорошей толерантности и отсутствия серьезных побочных эффектов у 76% пациентов развивалась ремиссия, а у оставшихся 24% снижалась активность образования почечных камней. Ранее обнадеживающие результаты были получены у животных. На модели генетически детерминированной гиперкальциемии у крыс применение алендроната на фоне низко-кальциевой диеты приводило к значительному уменьшению экскреции Ca^{2+} и снижению пересыщения мочи оксалатом кальция и брусшитом [109].

Таким образом, получены весьма обнадеживающие результаты использования пирофосфата и его аналогов в лечении кальциевого нефролитиаза, в первую очередь – при апатитных камнях. По мнению многих исследователей, как и в случае с фитатом, эти данные нуждаются в подтверждении в условиях серьезных многоцентровых рандомизированных испытаний [91,108,109].

Подводя итоги данного обзора, который мы рассматриваем как первый в цикле аналитических материалов, посвященных проблеме мочекаменной болезни, отметим, что физико-химические факторы сохраняют важное значение в патогенезе кальциевого нефролитиаза. Воздействие на эти факторы, в том числе и с помощью природных ингибиторов кристаллизации, является сегодня одним из эффективных методов профилактики рецидивов мочекаменной болезни.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Hess B. Pathophysiology, diagnosis and conservative therapy in calcium kidney calculi. *Ther Umsch* 2003; 60 (2): 79-87
2. Reynolds TM. Chemical pathology, clinical investigation and management of nephrolithiasis. *J Clin Pathol* 2005; 58 (2): 134-140
3. Тиктинский ОЛ, Александров ВП. *Мочекаменная болезнь*. Питер, СПб., 2000; 53-91
4. Кадыров ЗА, Истратов ВГ, Сулейманов СИ. Некоторые вопросы этиологии и патогенеза мочекаменной болезни. *Урология* 2006; (5): 98-101
5. Heilberg IP, Schor N. Renal stone disease: causes, evaluation and medical treatment. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006; 50 (4): 823-831

6. Lingeman J, Kahnoski R, Mardis H et al. Divergence between stone composition and urine supersaturation: clinical and laboratory implications. *J Urol* 1999; 161 (4): 1077-1081
7. Pak CY. Physicochemical basis for formation of renal stones of calcium phosphate origin: calculation of the degree of saturation of urine with respect to brushite. *J Clin Invest* 1969; 48 (10): 1914-1922
8. Pak CY, Holt K. Nucleation and growth of brushite and calcium oxalate in urine of stone-formers. *Metabolism* 1976; 25 (6): 665-673
9. Brown CM, Purich DL. Physical-chemical processes in kidney stone formation. In: Coe FL, Favus MJ, eds. Disorders of bone and mineral metabolism. Raven Press, New York, 1992; 613-624
10. Asplin JR, Bushinsky DA, Singharetnam W et al. Relationship between supersaturation and crystal inhibition in hypercalciuric rats. *Kidney Int* 1997; 51 (3): 640-645
11. Nicari MJ, Hill K, Pak CY. A simple technique for assessing the propensity for crystallization of calcium oxalate and brushite in urine from the increment in oxalate or calcium necessary to elicit precipitation. *Metabolism* 1983; 32 (9): 906-910
12. Bushinsky DA, Parker WR, Asplin JR. Calcium phosphate supersaturation regulates stone formation in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Kidney Int* 2000; 57: 550-560
13. Tiselius HG. Estimated levels of supersaturation with calcium phosphate and calcium oxalate in the distal tubule. *Urol Res* 1997; 25 (2): 153-159
14. Toblli JE, Angerosa M, Stella I et al. Urinary calcium oxalate supersaturation beyond nephrolithiasis. Relationship with tubulointerstitial damage. *Medicina (B. Aires)* 2003; 63 (2): 97-104
15. Robertson WG. Kidney models of calcium oxalate stone formation. *Nephron Physiol* 2004; 98 (2): 21-30
16. Pak CY, Eanes ED, Puskin B. Spontaneous precipitation of brushite in urine: evidence that brushite is the nidus of renal stones originating as calcium phosphate. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971; 68 (7): 1456-1460
17. Finlayson B. Physicochemical aspects of urolithiasis. *Kidney Int* 1978; 13 (5): 344-360
18. Carvalho M, Vieira MA. Changes in calcium oxalate crystal morphology as a function of supersaturation. *Int Braz J Urol* 2004; 30 (3): 205-209
19. Burns JR, Finlayson B. Changes in calcium oxalate morphology as function of concentration. *Invest Urol* 1980; 18 (2): 174-177
20. Parks JH, Coward M, Coe FL. Correspondence between stone composition and urine supersaturation in nephrolithiasis. *Kidney Int* 1997; 51 (3): 894-900
21. Asplin JR, Parks J, Lingeman J et al. Supersaturation and stone composition in a network of dispersed treatment sites. *J Urol* 1998; 159 (6): 1821-1825
22. Pak CY, Galosy RA. Propensity for spontaneous nucleation of calcium oxalate. Quantitative assessment by urinary FPR-APR discriminant score. *Am J Med* 1980; 69 (5): 681-689
23. Bushinsky DA, Asplin JR, Grynblas MD et al. Calcium oxalate stone formation in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Kidney Int* 2002; 61 (3): 975-987
24. Asplin JR, Parks JH, Coe FL. Dependence of upper limit of metastability on supersaturation in nephrolithiasis. *Kidney Int* 1997; 52 (6): 1602-1608
25. Bushinsky DA. Nephrolithiasis: site of the initial solid phase. *J Clin Invest* 2003; 111 (5): 602-605
26. Asplin JR, Parks JH, Chen MS et al. Reduced crystallization inhibition by urine from men with nephrolithiasis. *Kidney Int* 1999; 56: 1505-1516
27. Asplin JR, Parks JH, Nakagawa Y, Coe FL. Reduced crystallization inhibition by urine from women with nephrolithiasis. *Kidney Int* 2002; 61: 1821-1829
28. Зверев ЯФ, Брюханов ВМ, Талалаева ОС и др. О роли процессов свободно-радикального окисления в развитии экспериментального нефролитиаза. *Нефрология* 2008; 12 (1): 58-63
29. Брюханов ВМ, Зверев ЯФ, Лампатов ВВ и др. Функция почек в условиях экспериментального оксалатного нефролитиаза. *Нефрология* 2008; 12 (1): 69-74
30. Borghi L, Guerra A, Meschi T et al. Relationship between supersaturation and calcium oxalate crystallization in normals and idiopathic calcium oxalate stone formers. *Kidney Int* 1999; 55: 1041-1050
31. Borghi L, Meschi T, Amato F et al. Urinary volume, water and recurrences in idiopathic calcium nephrolithiasis: a 5-year randomized prospective study. *J Urol* 1996; 155 (3): 839-843
32. Bellizzi V, De Nicola L, Minutolo R et al. Effects of water hardness on urinary risk factors for kidney stones in patients with idiopathic nephrolithiasis. *Nephron* 1999; 81 (1): 66-70
33. Borghi L, Meschi T, Schianchi T et al. Urine volume: stone risk factor and preventive measure. *Nephron* 1999; 81 (1): 31-37
34. Whitson PA, Pietrzyk RA, Morukov BV, Sams CF. The risk of renal stone formation during and after long duration space flight. *Nephron* 2001; 89 (3): 264-270
35. Pietrzyk RA, Jones JA, Sams CF, Whitson PA. Renal stone formation among astronauts. *Aviat Space Environ Med* 2007; 78 (4): A9-A13
36. Whitson PA, Pietrzyk RA, Sams CF. Urine volume and its effects on renal stone risk in astronauts. *Aviat Space Environ Med* 2001; 72 (4): 368-372
37. Guerra A, Allegri F, Meschi T et al. Effects of urine dilution on quantity, size and aggregation of calcium oxalate crystals induced in vitro by an oxalate load. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43 (6): 585-589
38. Guerra A, Meschi T, Allegri F et al. Concentrated urine and diluted urine: the effects of citrate and magnesium on the crystallization of calcium oxalate induced in vitro by an oxalate load. *Urol Res* 2006; 34 (6): 359-364
39. Parks JH, Goldfischer ER, Coe FL. Changes in urine volume accomplished by physicians treating nephrolithiasis. *J Urol* 2003; 169 (3): 863-866
40. Stitchantrakul W, Kochakarn W, Ruangraksa C, Domrangkitchaiporn S. Urinary risk factors for recurrent calcium stone formation in Thai stone formers. *J Med Assoc Thai* 2007; 90 (4): 688-698
41. Ratan SK, Bhatnagar V, Mitra DK et al. Urinary citrate excretion in idiopathic nephrolithiasis. *Indian Pediatrics* 2002; 39: 819-825
42. Tiselius HG, Berg C, Fornander AM, Nilsson MA. Effects of citrate on the different phases of calcium oxalate crystallization. *Scanning Microsc* 1993; 7 (1): 381-389
43. Pak CY, Poindexter JR, Adams-Huet B, Pearle MS. Predictive value of kidney stone composition in the detection of metabolic abnormalities. *Am J Med* 2003; 115 (1): 26-32
44. Domrangkitchaiporn S, Stitchantrakul W, Kochakarn W. Causes of hypocitraturia in recurrent calcium stone formers: focusing on urinary potassium excretion. *Am J Kidney Dis* 2006; 48 (4): 546-554
45. Chow K, Dixon J, Gilpin S et al. Citrate inhibits growth of residual fragments in an in vitro model of calcium oxalate renal stones. *Kidney Int* 2004; 65 (5): 1724-1730
46. Hess B, Jordi S, Zipperle L et al. Citrate determines calcium oxalate crystallization kinetics and crystal morphology-studies in the presence of Tamm-Horsfall protein of a healthy subject and a severely recurrent calcium stone former. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 (3): 366-374
47. Schwill PO, Schmied A, Manoharan M. Is calcium oxalate nucleation in postprandial urine of males with idiopathic recurrent calcium urolithiasis related to calcium phosphate nucleation and the intensity of stone formation? Studies allowing insight into a possible role of urinary free citrate and protein. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42 (3): 283-293
48. Kulaksizoglu S, Sofikerim M, Cevik C. Impact of various modifiers on calcium oxalate crystallization. *Int J Urol* 2007; 14 (3): 214-218
49. Højgaard I, Tiselius HG. The effects of citrate and urinary macromolecules on the aggregation of hydroxyapatite crystals in solutions with a composition similar to that in the distal tubule. *Urol Res* 1998; 26 (2): 89-95

50. Greischar A, Nakagawa Y, Coe FL. Influence of urine pH and citrate concentration on the upper limit of metastability for calcium phosphate. *J Urol* 2003; 169 (3): 867-870
51. Messa P, Mioni G, Paganin L et al. Urinary citrate, bone resorption and intestinal alkali absorption in stone formers with fasting hypercalciuria. *Scanning Microsc* 1994; 8 (3): 531-538
52. Berg C. Alkaline citrate in prevention of recurrent calcium oxalate stones. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 1990; 130: 1-83
53. Coe FL, Evan A, Worcester E. Kidney stone disease. *J Clin Invest* 2005; 115 (10): 2598-2608
54. Hassani MA, Hennequin C, Lacour B, Daudon M. Influence of urinary citrate levels on spontaneous calcium oxalate dehydrate crystalluria. *Prog Urol* 2005; 15 (4): 650-655
55. Kok DJ, Papapoulos SE, Blomen LJM, Bijvoet OLM. Modulation of calcium oxalate monohydrate crystallization kinetics in vitro. *Kidney Int* 1988; 34: 346-350
56. Hennequin C, Lalanne V, Druke T et al. Validation by image analysis of a turbidimetric method to study calcium oxalate crystallization. *Clin Nephrol* 1997; 48: 292-299
57. Byer K, Khan SR. Citrate provides protection against oxalate and calcium oxalate crystal induced oxidative damage to renal epithelium. *J Urol* 2005; 173 (2): 640-646
58. Weber DV, Coe FL, Parks JH, Tembe V. Urinary saturation measurements in calcium nephrolithiasis. *Am Int Med* 1979; 90: 180-184
59. Hamm LL, Hering-Smith KS. Pathophysiology of hypocitraturic nephrolithiasis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2002; 31 (4): 885-893
60. Allie-Hamdulay S, Rodgers A. Prophylactic and therapeutic properties of a sodium citrate preparation for the potential management of calcium oxalate urolithiasis: randomized, placebo-controlled trial. *Urol Res* 2005; 33: 116-124
61. Rodgers A, Allie-Hamdulay S, Jackson G. Therapeutic action of citrate in urolithiasis explained by chemical speciation: increase in pH is the determinant factor. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21 (2): 361-369
62. Qiu SR, Wierzbicki A, Orme CA et al. Molecular modulation of calcium oxalate crystallization by osteopontin and citrate. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101 (7): 1811-1815
63. Qiu SR, Wierzbicki A, Salter EA et al. Modulation of calcium oxalate monohydrate crystallization by citrate through selective binding to atomic steps. *J Am Chem Soc* 2005; 127 (25): 9036-9044
64. De Yoreo JJ, Qiu SR, Hoyer JR. Molecular modulation of calcium oxalate crystallization. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291 (6): F1123-F1131
65. Cupisti A, Morelli E, Lupetti S et al. Low urine citrate excretion as main risk factor for recurrent calcium oxalate nephrolithiasis in males. *Nephron* 1992; 61: 73-76
66. Yagisawa T, Chandhoke PS, Fan J. Metabolic risk factors in patients with first-time and recurrent stone formations as determined by comprehensive metabolic evaluation. *Urology* 1998; 52: 750-755
67. Fegan J, Khan SR, Poindexter J, Pak CY. Gastrointestinal citrate absorption in nephrolithiasis. *J Urol* 1992; 147: 1212-1214
68. Hamm LL. Renal handling of citrate. *Kidney Int* 1990; 38: 728-735
69. Pajor CY. Citrate transport by the kidney and intestine. *Semin Nephrol* 1999; 19: 195-200
70. He Y, Chen X, Yu Z et al. Sodium dicarboxylate cotransporter-1 expression in renal tissues and its role in rat experimental nephrolithiasis. *J Nephrol (JN)* 2004; 17 (1): 34-42
71. Okamoto N, Aruda S, Matsuzaki S et al. Association between renal sodium-citrate cotransporter (hNaDC-1) gene polymorphism and urinary citrate excretion in recurrent renal calcium stone formers and normal controls. *Int J Urol* 2007; 14 (4): 344-349
72. Спасов АА. Магний в медицинской практике. Отрок, Волгоград, 2006; 34-56
73. Labeeuw M, Pozet N, Zech P, Traeger J. Role of magnesium in the physiopathology and treatment of calcium renal lithiasis. *Presse Med* 1987; 16 (1): 25-27
74. Johansson G, Backman U, Danielson BG et al. Effects of magnesium hydroxide in renal stone disease. *J Am Cell Nutr* 1982; 1 (2): 179-185
75. Vagelli G, Calabrese G, Pratesi G et al. Magnesium hydroxide in idiopathic calcium nephrolithiasis. *Minerva Urol Nefrol* 1998; 50 (1): 113-114
76. Rushton HG, Spector M. Effects of magnesium deficiency on intratubular calcium oxalate formation and crystalluria in hyperoxaluric rats. *J Urol* 1982; 127 (3): 598-604
77. Спасов АА, Иежица ИИ, Харитонова МВ и др. Экспериментальное обоснование эффективности солей магния в коррекции экспериментального кальций-фосфатного нефролитиаза. *Нефрология* 2008; 12 (3): 72-78
78. Lieske JC, Farell G, Deganello S. The effect of ions at the surface of calcium oxalate monohydrate crystals on cell-crystal interactions. *Urol Res* 2004; 32 (2): 117-123
79. Fetner CD, Barilla DE, Townsend J, Pak CY. Effects of magnesium oxide on the crystallization of calcium salts in urine in patients with recurrent nephrolithiasis. *J Urol* 1978; 120 (4): 399-401
80. Schwartz BF, Bruce J, Lesile S, Stoller ML. Rethinking the role of urinary magnesium in calcium urolithiasis. *J Endourol* 2001; 15 (3): 233-235
81. Massey L. Magnesium therapy for nephrolithiasis. *Magnesium Res* 2005; 18 (2): 123-126
82. Schwille PO, Schmiedl A, Herrmann U et al. Magnesium, citrate, magnesium citrate and magnesium-alkali citrate as modulators of calcium oxalate crystallization in urine: observations in patients with recurrent idiopathic calcium urolithiasis. *Urol Res* 1999; 27 (2): 117-126
83. Jaipakdu S, Prasongwatana V, Premgamone A et al. The effects of potassium and magnesium supplementations on urinary risk factors of renal stone patients. *J Med Assoc Thai* 2004; 87 (3): 255-263
84. Zerwekh JE, Odvina CV, Wuermser LA, Pak CY. Reduction of renal stone risk by potassium-magnesium citrate during 5 weeks of bed rest. *J Urol* 2007; 177 (6): 2179-2184
85. Grases F, Costa-Bauza A. Phytate (IP6) is a powerful agent for preventing calcifications in biological fluids: usefulness in renal lithiasis treatment. *Anticancer Res* 1999; 19 (5A): 3717-3722
86. Grases F, March JG, Prieto RM et al. Urinary phytate in calcium oxalate stone formers and healthy people-dietary effects on phytate excretion. *Scand J Urol Nephrol* 2000; 34 (3): 162-164
87. Grases F, Garcia-Gonzalez R, Torres JJ, Llobera A. Effects of phytic acid on renal stone formation in rats. *Scand J Urol Nephrol* 1998; 32 (4): 261-265
88. Grases F, Isern B, Sanchis P et al. Phytate acts as an inhibitor in formation of renal calculi. *Front Biosci* 2007; 12: 2580-2587
89. Saw NK, Chow K, Rao PN, Kavanagh JP. Effects of inositol hexaphosphate (phytate) on calcium binding, calcium oxalate crystallization and in vitro stone growth. *J Urol* 2007; 177 (6): 2366-2370
90. Fleisch H, Bisaz S. Isolation from urine of pyrophosphate, a calcification inhibitor. *Am J Physiol* 1962; 203: 671-675
91. Mochhala SH, Sayer JA, Carr G, Simmons NL. Renal calcium stones: insights from the control of bone mineralization. *Exp Physiol* 2008; 93 (1): 43-49
92. Russell RG. Metabolism of inorganic pyrophosphate (PPi). *Arthritis Rheum* 1976; 19 (3): 465-478
93. Laminski NA, Meyers AM, Sonnekus MI, Smyth AE. Prevalence of hypocitraturia and hypopyrophosphaturia in recurrent calcium stone formers: as isolated defects or associated with other metabolic abnormalities. *Nephron* 1990; 56: 379-386
94. Baumann JM, Bisaz S, Felix R et al. The role of inhibitors and other factors in the pathogenesis of recurrent calcium-containing renal stones. *Clin Sci Mol Med* 1977; 53: 141-148

95. Wikstrom B, Danielson BG, Ljunghall S et al. Urinary pyrophosphate excretion in renal stone formers with normal and impaired renal acidification. *World J Urol* 1983; 1: 150-154
96. Roberts NB, Dutton J, Helliwell T et al. Pyrophosphate in synovial fluid and urine and its relationship to urinary risk factors for stone disease. *Ann Clin Biochem* 1992; 29: 529-534
97. Jung A, Bisaz S, Fleisch H. The binding of pyrophosphate and two diphosphonates by hydroxyapatite crystals. *Calcif Tissue Res* 1973; 11: 269-280
98. Grases F, Ramis M, Costa-Bauza A. Effects of phytate and pyrophosphate on brushite and hydroxyapatite crystallization. Comparison with the action of other polyphosphates. *Urol Res* 2000; 28 (2): 136-140
99. March JG, Simonet BM, Grases F. Determination of pyrophosphate in renal calculi and urine by means of an enzymatic method. *Clin Chim Acta* 2001; 314: 187-194
100. Costa-Bauza A, Barcelo C, Perello J, Grases F. Synergism between the brushite and hydroxyapatite urinary crystallization inhibitors. *Int Urol Nephrol* 2002; 34: 447-451
101. Nouwen EJ, De Broe ME. Human intestinal versus tissue-nonspecific alkaline phosphatase as complementary urinary markers for the proximal tubule. *Kidney Int Suppl* 1994; 47: S43-S51
102. Harahap AR, Goding JW. Distribution of the murine plasma cell antigen PC-1 in non-lymphoid tissues. *J Immunol* 1988; 141: 2317-2320
103. Goding JW, Grobбен B, Slegers H. Physiological and pathophysiological functions of the ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1638: 1-19
104. Vekaria RM, Shirley DG, Sevigny J, Unwin RJ. Immunolocalization of ectonucleotidases along the rat nephron. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290: F550-F560
105. Vekaria RM, Unwin RJ, Shirley DG. Intraluminal ATP concentrations in rat renal tubules. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1841-1847
106. Carr G, Sayer JA, Simmons NL. Expression and localization of the pyrophosphate transporter, ANK, in murine kidney cells. *Cell Physiol Biochem* 2007; 20: 507-516
107. Ho AM, Johnson MD, Kingsley DM. Role of the mouse ank gene in control of tissue calcification and arthritis. *Science* 2000; 289: 265-270
108. Arrabal MM, Diaz de la Guardia FV, Jimenez PA et al. The treatment of renal lithiasis with biphosphonates. *Arch Esp Urol* 2007; 60 (7): 745-754
109. Bushinsky DA, Neumann KJ, Asplin J, Krieger NS. Alendronate decreases urine calcium and supersaturation in genetic hypercalciuric rats. *Kidney Int* 1999; 55 (1): 234-243

Поступила в редакцию 22.10.2008 г.

Принята в печать 10.02.2009 г.

© А.А.Яковенко, В.Д.Яковлев, Ю.Ю.Асанина, А.Г.Кучер, 2009
УДК 616.61-008.64-036.12-085.38:616.63-008.6]-092:616-002

А.А. Яковенко¹, В.Д. Яковлев¹, Ю.Ю. Асанина², А.Г. Кучер¹

РОЛЬ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ «УРЕМИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПИТАНИЯ» У ПАЦИЕНТОВ С ТЕРМИНАЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ, ПОЛУЧАЮЩИХ ЛЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕМОДИАЛИЗОМ

A.A. Yakovenko, V.D. Yakovlev, Yu.Yu. Asanina, A.G. Kucher

THE ROLE OF CHRONIC INFLAMMATION IN PATHOGENESIS OF «UREMIC MALNUTRITION» IN CHRONIC HEMODIALYSIS PATIENTS WITH END STAGE RENAL DISEASE

¹Кафедра пропедевтики внутренних болезней Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия; ²Городская поликлиника № 104, Санкт-Петербург, Россия

РЕФЕРАТ

Подробно описаны основные причины хронического воспаления у больных с терминальной почечной недостаточностью (ТПН), получающих лечение хроническим гемодиализом (ГД). Рассмотрены факторы хронического воспаления, как связанные с самой гемодиализной терапией, так и факторы, не связанные с гемодиализом. Детально показана связь «уремической недостаточности питания» у больных, получающих лечение хроническим ГД, и хронического воспаления. У гемодиализных больных при тяжелой «уремической недостаточности питания» имеет более высокий уровень основных маркеров воспаления, чем у больных с отсутствием нарушения питания. Ввиду того, что при хроническом воспалении активное воздействие на метаболизм оказывают провоспалительные цитокины, было сделано предположение, что хроническое воспаление, наблюдаемое у гемодиализных больных, является одним из причинных факторов для развития «уремической недостаточности питания» у этой группы пациентов. Теоретически эти взаимосвязи кажутся вполне логичными, однако результаты исследований в отношении связи хронического воспаления и выраженности «уремической недостаточности питания» при ТПН оказались противоречивыми. Наличие таких противоречий требует дальнейших научных изысканий в данном направлении.

Ключевые слова: недостаточность питания, хроническое воспаление, гемодиализ.

ABSTRACT

The main causes of chronic inflammation in chronic hemodialysis (HD) patients with end stage renal disease (ESRD) are described. The chronic inflammation factors, connected with hemodialysis therapy in itself, as well as factors not related to hemodialysis are described. The connection between «uremic malnutrition» in chronic HD patients and chronic inflammation is shown in detail. In hemodialysis patients with severe «uremic malnutrition» has a higher level of the main inflammation markers, than patients with no malnutrition signs. As a result of the fact that in chronic inflammation the active impact on the metabolism have anti-inflammatory cytokines, a proposition was made that chronic inflammation in hemodialysis patients is one of the cause factors for the development of «uremic malnutrition» in this group of patients. Theoretically these interconnections seem very logical, although the results of the investigations in relation with chronic inflammation and the degree of «uremic malnutrition» in ESRD seem contradictory. The presence of this contradictions necessitate in further investigation in this direction.

Key words: malnutrition, chronic inflammation, hemodialysis.

Недавними исследованиями было показано, что у 30 – 50 % больных с терминальной почечной недостаточностью (ТПН), получающих лечение хроническим гемодиализом (ГД), имеет место широкое распространение повышенных уровней маркеров воспаления [1, 2]. Средние концентрации большинства провоспалительных цитокинов у гемодиализных больных в 7 раз выше, чем у здоро-

вых лиц в контроле [3]. В ходе ряда исследований было также показано, что уровень СРБ, маркера, отражающего генерацию провоспалительных цитокинов (интерлейкин – 1, фактор некроза опухоли – α , интерлейкин – 6), значительно повышен у больных на ГД [4, 2].

Причины хронического воспаления у больных, получающих лечение хроническим ГД

Причины хронического воспаления у гемодиализных больных обусловлены следующими факторами [5, 6, 7]:

Яковенко А.А. 197022 Санкт-Петербург, ул. Л.Толстого 17, СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова, Нефрокорпус, тел.: (812)-234-91-94, факс: (812)-234-91-91, E-mail: leptin-rulit@mail.ru

1) Факторы, не связанные с гемодиализом:

- сниженный почечный клиренс цитокинов,
- накопление «потенциальных уремических токсинов», таких, как конечные продукты продвинутого гликолиза, которые стимулируют синтез цитокинов,
- хроническая сердечная недостаточность,
- атеросклеротический процесс сам по себе,
- персистирующие инфекции, в том числе *Chlamydia pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Hepatitis B, C*, зубные и десневые инфекции,
- генетические факторы.

2) Факторы, связанные с гемодиализом:

- инфекция катетера, трансплантата, фистулы,
- биологическая несовместимость гемодиализных мембран,
- активация системы комплемента,
- воздействие эндотоксинов и других цитокин-индуцирующих субстанций из диализата,
- обратная фильтрация.

Доказано, что снижение функции почек способствует уменьшению клиренса ряда провоспалительных цитокинов (интерлейкина – 1 (IL-1), фактора некроза опухоли – α (TNF- α)) [8]. Значимость почек в транспортировке цитокинов подтверждена C.Hession и соавт. в 1987 году [9], которые показали, что гликопротеин Тамма-Хорсфалла регулирует активность ряда цитокинов (IL-1, TNF- α). В то же самое время почки играют важную роль в метаболизме конечных продуктов продвинутого гликолиза (AGEs), который играет важную роль в активации мононуклеаров и в стимуляции воспалительной реакции [6].

К числу других, не связанных с ГД, причин хронического воспаления у гемодиализных больных можно отнести такие факторы, как хроническая сердечная недостаточность с отеками [10] и сам по себе атеросклеротический процесс [11].

В то время, как неинфекционные факторы могут быть наиболее распространенными причинами хронического воспаления у гемодиализных больных, следует отметить, что способствовать этому также могут хронические персистирующие инфекции, такие как *Chlamydia pneumoniae* [12], *Helicobacter pylori* [13; 6], *Hepatitis B, C* [14; 15], зубные и десневые инфекции [16].

Следует отметить роль генетических факторов, способных влиять на степень выраженности воспалительной реакции у гемодиализных больных различных рас [17]. A.J.Szalai и соавт. в 2002 году [18] сообщили о распространенности полиморфизма GT-гереат в интроне гена СРБ, который способствует вариациям в базисном СРБ, также были отмечены различия у лиц европеоидной расы по

сравнению с афроамериканцами. В результате чего были сделаны выводы, позволяющие предполагать, что различные генотипы в разных популяциях или расах могут способствовать различиям в их воспалительном статусе.

Ряд научных работ указывает, что сама по себе гемодиализная терапия может способствовать развитию воспалительной реакции у больных, получающих лечение ГД [6]. Одной из главных причин хронического воспаления у больных на ГД может быть проникновение эндотоксинов из гемодиализной жидкости в кровь. Обычно используемая гемодиализная жидкость, приготовленная посредством обратного осмоса и концентрата бикарбоната, может подвергаться микробиологической контаминации. Хотя интактные гемодиализные мембраны непроницаемы для бактерий, растворимые пирогенные бактериальные продукты путем пенетрации (обратной фильтрации и обратной диффузии) через гемодиализные мембраны вызывают активацию моноцитов и индуцируют продукцию цитокинов [19].

Развитию и поддержанию хронического воспаления у гемодиализных больных может способствовать повторный контакт крови с искусственными материалами в экстракорпоральной цепи. Подобный стимул активирует иммунную систему и агрегацию тромбоцитов, способствуя поддержанию воспалительного процесса [20]. Среди искусственных материалов экстракорпоральной цепи гемодиализная мембрана с ее обширной поверхностью играет ключевую роль в основе «контактного» воспаления [21]. Применение синтетических мембран по сравнению с гемодиализными мембранами на основе незамещенной и замещенной целлюлозы может снизить выраженность хронического воспаления, обусловленного гемодиализной мембраной [22]. В исследовании K.Caglar и соавт. в 2002 году [23] при первично постоянном вливании L-лейцитина за 2 часа до, во время и спустя 2 часа после однократного сеанса ГД, были получены доказательства наличия ГД-индуцированной воспалительной реакции (интерлейкин – 6 (IL-6)), которая обостряется в течение последующих 2 часов после завершения сеанса ГД.

Сосудистый доступ, особенно сосудистые трансплантаты и катетеры, обеспечивают входные ворота для поступления инфекции, которая может быть еще одной причиной хронического воспаления у гемодиализных больных. Хотя полагают, что трансплантаты и, в меньшей степени, артериовенозные фистулы представляют значимый источник доступа инфекции [24], считается, что использование катетера для доступа крови у гемодиализ-



Рис. 1. Предполагаемая взаимосвязь между хроническим воспалением и «уремической недостаточностью питания» у больных, получающих лечение ГД.

ных больных играет главную роль в качестве источника поступления инфекции [25, 26].

Хроническое воспаление и его связь с «уремической недостаточностью питания» у больных, получающих лечение хроническим ГД

Интересен тот факт, что наличие маркеров воспаления и «уремическая недостаточность питания» имеют тенденцию к сосуществованию у больных, получающих лечение ГД [4, 2]. Это было наглядно продемонстрировано в исследовании A.R.Qureshi и соавт. 1998 году [27]. У гемодиализных больных при тяжелой «уремической недостаточности питания» высокий уровень СРБ (> 20 мг/л) встречался в 4 раза чаще, чем у больных с отсутствием нарушения питания.

При хроническом воспалении активное воздействие на метаболизм оказывают провоспалительные цитокины, в результате чего развиваются анорексия, увеличение катаболизма как соматического, так и висцерального пула белка, нарушение взаимосвязи в системе гормона роста и инсулиноподобного фактора роста-1, увеличение расходования энергии и снижение содержания жира в организме [28, 29].

Выше отмеченные изменения напоминают метаболические нарушения, ведущие к «уремической недостаточности питания», наблюдаемой у гемодиализных больных. Эти данные, равно как и тот факт, что хроническое воспаление и «уремическая недостаточность питания» весьма распространены у гемодиализных больных и имеют тенденцию к сосуществованию, привели к мнению, что хроническое воспаление, наблюдаемое у гемодиализных больных, является одним из причинных

факторов для развития недостаточности питания у этой группы пациентов [30, 6, 7], предполагаемая взаимосвязь между хроническим воспалением и «уремической недостаточностью питания» у больных, получающих лечение ГД представлена на рис. 1.

Анорексия – это хорошо доказанный метаболический эффект воспаления. Очевидно, что провоспалительные цитокины, такие IL-1, TNF- α , IL-6, интерлейкин – 8 (IL-8) за счет своего прямого ингибирующего влияния на центр насыщения приводят к развитию анорексии [31]. В ряде работ показана роль простагландинов в разви-

тии анорексии, и ее уменьшение при профилактическом использовании противовоспалительных средств [32]. Исследования на животных также показали увеличение расщепления мышечного белка скелетных мышц при введении TNF- α (с IL-1 или без IL-1) [33]. Повышенные уровни IL-6 также сочетаются с увеличением протеолиза мышц, а введение антител к рецептору IL-6 может блокировать этот эффект [33]. Таким образом, сочетание присутствия сниженного потребления питательных веществ и состояние увеличенного расщепления белка ухудшает суммарный азотистый баланс, predisposing больных, получающих ГД, к ускоренному развитию недостаточности питания. В настоящий момент доказано отрицательное влияние повышения уровня ряда цитокинов, в том числе IL-6, на жировую ткань, что приводит к уменьшению запасов жира в организме и способствует развитию «уремической недостаточности питания» (НП) у гемодиализных больных [29].

Другим хорошо известным влиянием хронического воспаления является активация системы комплемента. В основе активации данной системы лежит использование диализных мембран на основе незамещенной и замещенной целлюлозы. Экспериментально доказано [34], что применение этих мембран влияет на катаболизм белка за счет прямого контакта крови в момент ее прохождения через диализатор со свободными поверхностными гидроксильными группами самой мембраны. В ходе другого исследования [35] выявлено, что использование диализных мембран на основе синтетических материалов сочеталось со значительно более высокими концентрациями альбумина и инсу-

линоподобного фактора роста-1 сыворотки, а также более высокой прибавкой в весе по сравнению с использованием диализных мембран на основе незамещенной и замещенной целлюлозы (купрофан, ацетат и диацетат целлюлозы).

Хроническое воспаление также сочетается с опосредованным цитокинами гиперкатаболизмом, что ведет к увеличению расходования энергии в покое (увеличению основного обмена). Хотя до конца механизм увеличения основного обмена в настоящий момент не ясен, считается доказанным, что высокие показатели основного обмена наблюдаются в сочетании с увеличенными концентрациями провоспалительных цитокинов [36]. Больным, получающим ГД, свойственно значительное увеличение основного обмена, даже в условиях использования биологически совместимых мембран [37, 38]. При таких условиях гемодиализные больные подвержены риску выраженного негативного азотистого баланса, предрасполагающего их к «уремической недостаточности питания», поскольку потребляемая ими диетическая энергия часто оказывается неадекватной для компенсации увеличенного основного обмена [39].

Хроническое воспаление индуцирует снижение произвольной активности развитие слабости и заболеваний, инициирующих воспаление, может привести к значительному снижению физической активности пациентов. Пролонгирование такого состояния может сопровождаться мышечной слабостью, атрофией мышц и негативным азотистым балансом. Все это ведет к утрате тощей массы тела [28].

Повышение уровня ряда цитокинов (в том числе IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α) ведет к нарушению и значительному снижению активности системы гормона роста и IGF-1, что ослабляет анаболическое действие этих гормонов, и может являться дополнительным фактором в развитии недостаточности питания у больных, получающих лечение хроническим ГД [40].

Все эти данные свидетельствуют о неоспоримой роли хронического воспаления в патогенезе развития НП у больных, получающих лечение хроническим ГД. Хотя в то же самое время существуют научные работы [41], доказывающие отсутствие связи состояния питания и признаков хронического воспаления, что делает актуальным дальнейшее научное исследование, направленное на уточнение роли хронического воспаления в развитии НП у гемодиализных больных.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Don BR, Kaysen GA. Assessment of inflammation and nutrition in patients with end-stage renal disease. *J Nephrol*

2000; 13 (4): 249-259

2. Bayes B, Pastor MC, Bonal J et al. Homocysteine, C-reactive protein, lipid peroxidation and mortality in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18 (1): 106-112

3. Kimmel PL, Phillips TM, Simmens SJ et al. Immunologic function and survival in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998; 54 (1): 236-244

4. Kaysen GA. Malnutrition and the acute-phase reaction in dialysis patients: How to measure and how to distinguish. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 (10): 1521-1524

5. Kaysen GA. The microinflammatory state in uremia: causes and potential consequences. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12 (7): 1549-1557

6. Yao Q, Lindholm B, Stenvinkel P. Inflammation as a cause of malnutrition, atherosclerotic cardiovascular disease, and poor outcome in hemodialysis patients. *Hemodial Int* 2004; 8 (2): 118-129

7. Coskun C, Kural A, Doventas Y et al. Hemodialysis and protein oxidation products. *Ann NY Acad Sci* 2007; 1100: 404-408

8. Bemelmans MH, Gouma DJ, Buurman WA. Influence of nephrectomy on tumor necrosis factor clearance in a murine model. *J Immunol* 1993; 150 (5): 2007-2017

9. Hession C, Decker JM, Sherblom AP et al. Uromodulin (Tamm-Horsfall glycoprotein): A renal ligand for lymphokines. *Science* 1987; 237 (4821): 1479-1484

10. Niebauer J, Volk HD, Kemp M et al. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: A prospective cohort study. *Lancet* 1999; 353 (9167): 1838-1842

11. Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J* 1999; 138 (5): 419-420

12. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre F et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 55 (5): 1899-1911

13. Aguilera A, Codoceo R, Bajo MA et al. Helicobacter pylori infection: A new cause of anorexia in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 2001; 21 (3): S152-S156

14. Malatino LS, Mallamaci F, Benedetto FA et al. Hepatocyte growth factor predicts survival and relates to inflammation and intima media thickness in end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis* 2000; 36 (5): 945-952

15. Kalantar-Zadeh K, Kilpatrick RD, McAllister CJ et al. Hepatitis C virus and death risk in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18 (5): 1584-1593

16. Rahmati MA, Craig RG, Homel P et al. Serum markers of periodontal disease status and inflammation in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2002; 40 (5): 983-989

17. Suhardjono. Malnutrition-inflammation syndrome in a hemodialysis population: the influence of polymorphic IL-6-174 and IL-10-1082 genes. *Acta Med Indones* 2006; 38 (3): 145-149

18. Szalai AJ, McCrory MA, Cooper GS et al. Association between baseline levels of C-reactive protein (CRP) and a dinucleotide repeat polymorphism in the intron of the CRP gene. *Genes Immun* 2002; 3 (1): 14-19

19. Schiff H, Lang SM, Stratakis D, Fischer R. Effects of ultrapure dialysis fluid on nutritional status and inflammatory parameters. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16 (9): 1863-1869

20. Stefoni S, La Manna G, De Sanctis LB et al. Clinical biology of artificial organ substitution. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13 (7): 51-54

21. Masaki T, Gilson J, Leypoldt JK, Cheung AK. Effect of permeability on indices of haemodialysis membrane biocompatibility. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14 (5): 1176-1181

22. Schouten WE, Grooteman MP, van Houte AJ et al. Effects of dialyser and dialysate on the acute phase reaction in clinical bicarbonate dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 (3): 379-384

23. Caglar K, Peng Y, Pupim LB et al. Inflammatory signals associated with hemodialysis. *Kidney Int* 2002; 62 (4): 1408-1416

24. Minga TE, Flanagan KH, Allon M. Clinical consequences

of infected arteriovenous grafts in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2001; 38 (5): 975-978

25. Allon M, Depner TA, Radeva M et al. Impact of dialysis dose and membrane on infection-related hospitalization and death: Results of the HEMO Study. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 (7): 1863-1870

26. Lok CE, Stanley KE, Hux JE et al. Hemodialysis infection prevention with polysporin ointment. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 (1): 169-179

27. Qureshi AR, Alvestrand A, Danielsson A et al. Factors predicting malnutrition in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *Kidney Int* 1998; 53 (3): 773-782

28. Bergstrom J, Lindholm B, Lacson E et al. What are the causes and consequences of the chronic inflammatory state in chronic dialysis patients? *Semin Dial* 2000; 13 (3): 163-175

29. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89 (6): 2548-2556

30. Pupim LB, Ikizler TA. Uremic malnutrition: new insights into an old problem: Review. *Semin Dial (Cambridge, Ma)* 2003; 16 (3): 224-232

31. Bergstrom J. Mechanisms of uremic suppression of appetite. *J Ren Nutr* 1999; 9 (3): 129-132

32. Dinarello CA, Roubenoff RA. Mechanisms of loss of lean body mass in patients on chronic dialysis. *Blood Purif* 1996; 14 (5): 388-394

33. Guttridge DC, Mayo MW, Madrid LV et al. NF-kappaB-induced loss of MyoD messenger RNA: Possible role in muscle decay and cachexia. *Science* 2000; 289 (5488): 2363-2366

34. Locatelli F, Mastrangelo F, Redaelli B et al. Effect of

different membranes and dialysis technologies on patient treatment tolerance and nutritional parameters. The Italian Cooperative Dialysis Study Group. *Kidney Int* 1996; 50 (4): 1293-1302

35. Parker TF 3rd, Wingard RL, Husni L et al. Effect of the membrane biocompatibility on nutritional parameters in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 1996; 49 (2): 551-556

36. Roubenoff R, Roubenoff RA, Cannon JG et al. Rheumatoid cachexia: cytokine-driven hypermetabolism accompanying reduced body cell mass in chronic inflammation. *J Clin Invest* 1994; 93 (6): 2379-2386

37. Ikizler TA, Wingard RL, Sun M et al. Increased energy expenditure in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7 (12): 2646-2653

38. Ikizler TA, Pupim LB, Brouillette JR et al. Hemodialysis stimulates muscle and whole body protein loss and alters substrate oxidation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 282 (1): E107-E116

39. Neyra R, Chen KY, Sun M et al. Increased resting energy expenditure in patients with end-stage renal disease. *JPEN. J Parenter Enteral Nutr* 2003; 27 (1): 36-42

40. Don BR, Rosales LM, Levine NW et al. Leptin is a negative acute phase protein in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 2001; 59 (3): 1114-1120

41. Carvalho KT, Silva MI, Bregman R. Nutritional profile of patients with chronic renal failure. *J Ren Nutr* 2004; 14 (2): 97-100

Поступила в редакцию 6.10.2008 г.

Принята в печать 10.02.2009 г.

© А.Ю.Жариков, Я.Ф.Зверев, В.М.Брюханов, В.В.Лампатов, 2009
УДК 616.61-003.7-02:616.633.461.2

А.Ю. Жариков¹, Я.Ф. Зверев¹, В.М. Брюханов¹, В.В. Лампатов¹

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МОДУЛЯТОРАХ ОКСАЛАТНОГО НЕФРОЛИТИАЗА. I. СТИМУЛЯТОРЫ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ

A.Yu. Jaricov, Ya.F. Zverev, V.M. Brukhanov, V.V. Lampatov

THE CURRENT CONCEPTIONS ABOUT THE MODULATORS OF THE OXALATE NEPHROLYTHIASIS. I. STIMULATORS OF CRYSTALLIZATION

¹ Кафедра фармакологии Алтайского государственного медицинского университета, г.Барнаул, Россия

РЕФЕРАТ

В обзоре проанализированы факторы, способствующие кристаллизации оксалата кальция в почечных канальцах, и их роль в патогенезе мочекаменной болезни. Обсуждены общие представления о взаимодействии кристаллов с клетками эпителия канальцев почек. В качестве кандидатных кристалл-связывающих молекул рассмотрены сиаловая кислота, остеопонтин, фосфатидилсерин, белок, связанный с нуклеолином, аннексин II и гиалуронан, который, по-видимому, является основным индуктором кристаллизации. Поддержано мнение, согласно которому инициирующим моментом кристаллизации является обусловленное различными причинами повреждение почечного эпителия.

Ключевые слова: оксалатный нефролитиаз, стимуляторы кристаллизации.

ABSTRACT

In this review were analyzed the factors, helping in crystallization of calcium oxalate in renal tubules, and their role in pathogenesis of urinary kidney disease. The basic statements on the about the interactions of crystals with the epithelial renal tubular cells. For the role for the possible candidates for crystal connecting molecules were viewed sialic acid, osteopontin, phosphatidylserin, protein, connected with nucleolin, annexin II and hyaluronan, which, probably, is the main inductor of crystallization. Was supported the opinion, according to which the initiating moment of crystallization is renal epithelial damage of various genesis.

Key words: oxalate nephrolithiasis, stimulators of crystallization.

На протяжении всей жизни в организме человека, и в том числе в почках, в условиях постоянно образующейся пересыщенной многими солями мочи идет процесс синтеза нерастворимых микрокристаллов. Этот перманентный процесс является весьма безобидным, поскольку у большинства людей кристаллы легко покидают почку с током мочи. Согласно известным экспериментальным данным, полученным D.G.Kok [1], скорость движения жидкости вдоль различных отделов нефрона составляет от 24 сек в проксимальных почечных канальцах до 48 сек в собирательных трубках (общее время пребывания мочи в нефроне – 254 сек), что вполне способно обеспечить экскрецию кристаллов без появления признаков нефролитиаза. Однако при определенных условиях образующиеся микрокристаллы могут прикрепляться к стенкам почечных канальцев, создавать увеличивающиеся в размерах агрегаты, что ведет к развитию нефрокальциноза, нефролитиаза и, в конце

концов, обуславливает развитие мочекаменной болезни (МКБ). Суть проблемы состоит в идентификации этих «определенных условий», что в значительной степени и является ключевым фактором, определяющим наше понимание основных звеньев патогенеза заболевания. Согласно современным представлениям, в коллоидном растворе, которым является моча, во время движения вдоль почечных канальцев, как и ряде других тканей, сосуществуют два процесса, определяющих интенсивность биоминерализации: стимуляция и ингибирование кристаллизации. Как правило, эти процессы находятся в динамическом равновесии. Сдвиг же этого равновесия в сторону активации образования кристаллов, наряду с другими факторами, в конечном счете и приводит к возникновению мочекаменной болезни.

Сегодня на страницах специальной литературы развернулась весьма оживленная дискуссия по поводу пускового механизма, ответственного за инициирование оксалатного нефролитиаза. Исследователи под руководством S.R.Khan после длительного изучения так называемых «стрессовых

Зверев Я.Ф. Алтайский медицинский университет, кафедра фармакологии. 656038, г.Барнаул, пр.Ленина, 40, (3852) 26-08-35, zver@asmu.ru

факторов», выдвинули предположение о том, что одним из главных факторов риска при МКБ, наряду с воспалением и ишемией, является оксалат в связи с его местной токсичностью и плохой растворимостью [2-5]. Одновременно высказанная идея нашла подтверждение и в работах других авторов [6-10]. Это привело к созданию гипотезы, согласно которой оксалат инициирует в почке оксидативный стресс, генерируя здесь продукты свободно-радикального окисления [11-15]. Пока, к сожалению, не ясно, являются ли образующиеся свободные радикалы причиной повреждения почечной ткани или они образуются в результате повреждения канальцевого эпителия [16]. Более того, в процессе дискуссии высказываются сомнения в повреждающей роли оксалата, поскольку в ряде работ этот эффект наблюдался лишь при его использовании в концентрациях значительно превышающих физиологические, а повреждение индуцировалось не в тех отделах нефрона, где происходит отложение кристаллов [17-20].

Как бы то ни было, сегодня господствует мнение, согласно которому интактный почечный эпителий не является благоприятной основой для прикрепления кристаллов. Но когда по тем или иным причинам (чаще под влиянием оксалата) возникает повреждение клеток канальцев с последующей активацией процессов регенерации и репарации, возникают условия для их селективного связывания с кристаллами [21]. По мнению нидерландских исследователей из лаборатории C.F.Verkoelen, пролиферирующие и мигрирующие клетки уротелия, в отличие от интактных, экспрессируют на своей поверхности молекулы соединений, обладающих высоким аффинитетом к кристаллам [21-24]. Эти вещества, представляющие собой специфические макромолекулы, участвуют в регуляции взаимоотношений кристалл – клетка, выполняя роль стимуляторов (промоуторов) адгезии кристаллов. Такие соединения получили название «кристалл-связывающие молекулы» (CBM). В настоящем обзоре мы сфокусируем внимание на подробном описании функциональных свойств этих стимуляторов прикрепления кристаллов к поверхности клеток почечного эпителия.

Общие представления о взаимодействиях кристалл – клетка

В 1978 году B.Finlayson и F.Reid [25] предложили теорию «фиксированной частицы» («fixed-particle»), в противовес теории «свободной частицы» («free-particle»), выдвинутой десятью годами ранее [26]. Смысл последней состоял в том, что в процессе прохождения нерастворимой частицы вдоль нефрона она быстро и значительно увеличивается в размерах, достигая величины, способной

обтурировать собирательные трубки. Согласно теории «фиксированной частицы» высокая скорость продвижения по канальцам не позволяет частице за считанные минуты достичь таких размеров. Поэтому в основе предстоящей кристаллизации лежит фиксация мелкой частицы на поверхности клеток почечных канальцев с последующим ее ростом. Отсюда возникает основной вопрос: что заставляет микрокристаллы прикрепляться к апикальной мембране канальцевых клеток? Авторы теории «фиксированной частицы» говорят о появлении на поверхности почечных канальцев некоей «... сплошной новой зоны ...», необходимой для фиксирования микрочастиц [25]. Цитируемая работа положила начало большому числу исследований, благодаря которым значительно продвинулось наше понимание событий, предшествующих образованию почечных конкрементов. Сегодня процесс взаимодействия кристалл – клетка рассматривается как ключевой момент в патогенезе нефролитиаза. А интенсивное изучение этой проблемы предопределило идентификацию целого ряда кристалл-связывающих молекул (CBM).

Молекулярные механизмы, обеспечивающие взаимодействие кристаллов с молекулами апикальной поверхности почечного эпителия, до сих пор исследованы недостаточно. И все же, в последние годы благодаря применению таких современных методов как молекулярное моделирование и атомно-силовая микроскопия (atomic-force microscopy, AFM) позволили несколько приоткрыть завесу над этим во многом таинственным процессом. Определение с помощью этих методов стереохимических аспектов взаимоотношений между кристаллами и клетками уротелия позволило установить ряд факторов, обеспечивающих модулирование процесса кристаллизации [27-30]. AFM является инструментом, который позволяет в режиме реального времени исследовать рост кристаллов в растворе с фиксацией взаимодействия отдельных молекул с гранями кристалла. При этом в ходе эксперимента появляется возможность четко контролировать состав, температуру, pH и скорость тока используемого раствора, что, в свою очередь, позволяет исследовать эффекты модуляторов изучаемого процесса [31]. Недавно с помощью AFM удалось измерить силу взаимодействия между кристаллами СОМ коллоидных проб и монослоями клеток почечного эпителия и показать, что эта сила обусловлена ионными или водородными связями испытуемых образцов [32, 33].

Как известно, практически все кристаллы в почках представлены нерастворимыми солями кальция, причем большая их часть приходится на

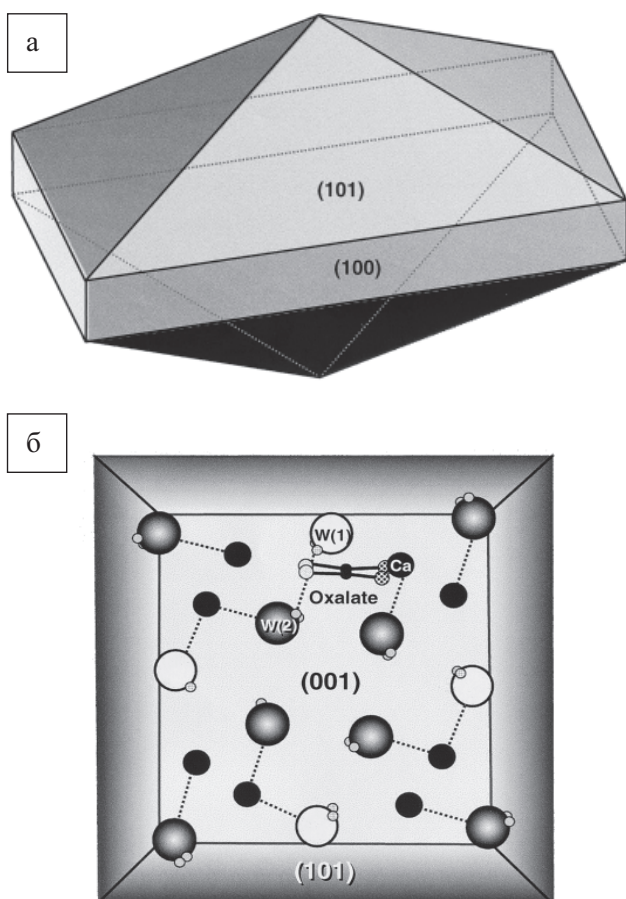


Рис. 1. а. Форма созревшего кристалла COD (по Lieske et al., 2001); б. Примерная схема атомной организации растущего кристалла COD (по Lieske et al., 2001).

долю моно-(COM) и дигидратов (COD) оксалата кальция (примерно 80% от общего количества камней) [34, 35]. Созревшие кристаллы имеют форму двойной пирамиды с восемью видимыми (101) гранями (рис. 1 а). Растущие кристаллы прирастают в основном за счет развития (001) грани (рис. 1 б).

Из последнего рисунка видно, что в пределах 001 грани располагаются ионы Ca^{2+} , а также атомы водорода и кислорода из молекул воды. Ионы оксалата обычно простираются на плоских поверхностях 100 и 001 граней и симметрично расположены им частях [29, 31].

Именно за счет присутствия в своем составе ионов Ca^{2+} кристаллы имеют большой положительный заряд [36]. Поэтому изначально возникло предположение, что адгезия кристаллов на клетке может обеспечиваться путем образования физико-химических связей с поверхностными молекулами, которые имеют соответствующий по величине отрицательный заряд. К таковым могут быть отнесены многие структурные компоненты гликокаликса клеток почечного эпителия – гликопротеины, гликолипиды, гликозаминогликаны и ряд других веществ.

Отметим, что согласно современным требованиям, при рассмотрении определенного вещества в качестве потенциального рецептора для кристаллов, к этому веществу предложен ряд обязательных критериев, которым оно должно соответствовать [23].

Критерии отнесения вещества к стимуляторам адгезии кристаллов:

1) Кристаллы должны связываться с клеткой в присутствии вещества;

2) Кристаллы не должны связываться с клеткой при отсутствии вещества;

3) Наблюдения должны подтверждать, что кристаллы напрямую взаимодействуют с веществом.

Разумеется, механизм такого сложного взаимодействия, как взаимодействие кристалл – клетка, вряд ли ограничивается образованием прямых физико-химических связей, однако, данный критерий многими весьма авторитетными учеными рассматривается как основной.

На современном этапе исследований к веществам, соответствующим вышеуказанным критериям, и, как следствие, могущим характеризоваться в качестве стимулятора адгезии кристаллов, относят сialовую кислоту, фосфатидилсерин, аннексин II, гиалуронан, остеопонтин и связанный с нуклеолином протеин. Нижеследующие разделы нашего обзора будут посвящены рассмотрению роли каждого вещества в камнеобразовании, а также их возможным взаимодействиям.

Сиаловая кислота

Сиаловая (N-ацетилнейраминовая) кислота – ациальное производное нейраминовой кислоты, присутствующее во всех тканях и жидкостях организма животных и человека.

Сиаловая кислота (СК) является полифункциональным соединением, которое обладает выраженными кислотными свойствами и несет на себе большой отрицательный заряд. Эти свойства СК обусловлены присутствием в ее химической структуре свободной карбоксильной группы во втором положении (рис. 2). В обычных условиях СК в нативном виде, как правило, не встречается, а входит в состав различных углеводсодержащих веществ, таких как гликопротеины, гликолипиды (ганглиозиды), олигосахариды. Они обеспечивают структурные и функциональные свойства гликокаликса многих клеток, и в том числе, гликокаликса нефроцитов. Занимая в молекулах указанных веществ концевое положение, СК оказывает значительное влияние на их физико-химические свойства и биологическую активность. Определяя отрицательный заряд молекул гликопротеинов, СК обуславливает их вытянутую форму и, как следствие,

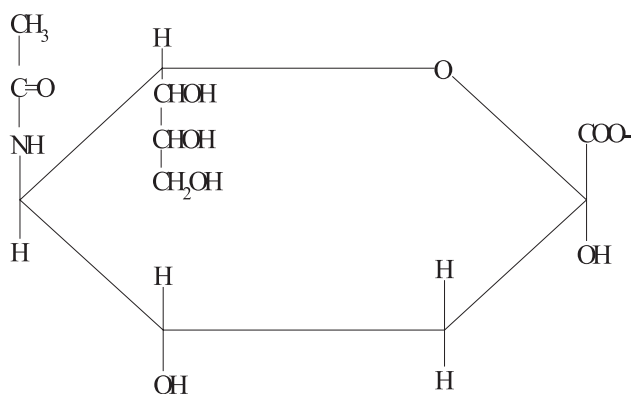


Рис. 2. Структура сиаловой кислоты.

высокую вязкость содержащих эти гликопротеины секретов.

Вышеназванные свойства СК, и в первую очередь ее высокий отрицательный заряд, вполне могут придавать ей способность стимулировать адгезию кристаллов на поверхности клеток уротелия.

Роль сиаловой кислоты в процессе камнеобразования была замечена достаточно давно. Еще в 1980 году при изучении состава органической матрицы почечных камней было обнаружено присутствие указанной кислоты во всех исследуемых образцах [37]. Позже эти результаты были неоднократно подтверждены другими экспериментами. На основе полученных данных был сделан вывод, что СК играет важную роль в патогенезе нефролитиаза, однако в чем заключается эта функция, оставалось неизвестным [38]. Само по себе присутствие СК в органической матрице камней могло интерпретироваться двояко. С одной стороны, это могло свидетельствовать о стимулирующей роли СК в процессе адгезии кристаллов, но, с другой стороны, могло демонстрировать и защитную функцию СК.

Многочисленные эксперименты опровергли предположение о возможной ингибирующей активности сиаловой кислоты в отношении процесса кристаллизации. Ни свободная, ни связанная СК не угнетала рост кристаллов в клеточной культуре [39]. Параллельно, многими исследователями было установлено, что удаление сиаловой кислоты с поверхности клеток приводит к значительному ослаблению связывания кристаллического материала [40]. Эти результаты позволили предположить, что СК является промоутером адгезии кристаллов. Поэтому дальнейшие исследования были направлены на установление механизмов, с помощью которых СК стимулирует образование комплекса кристалл – клетка.

Одни из первых экспериментов, подтверждающих роль сиаловой кислоты в рецепции кристал-

лов, были проведены в 1996 году в лаборатории колледжа Mayo (Рочестер, США) [36]. J.C.Lieske с соавторами зафиксировал прилипание кристаллов COM к почечным клеткам собак Madin-Darby (MDCK) и к клеточной культуре почечного эпителия африканских зеленых обезьян (BSC-1). При этом связывание кристаллов ослаблялось после предварительного инкубирования клеток с положительно заряженными соединениями. Это указывало, во-первых, на предпочтительную адгезию кристаллов к отрицательно заряженным компонентам клеточной поверхности и, во-вторых, на то, что влияние катионных соединений было обусловлено скорее воздействием на поверхность уротелия, чем на поверхность кристаллов [36]. С учетом того, что в значительной степени отрицательный заряд клеточной поверхности определяется терминальными остатками сиаловой кислоты этими же авторами было установлено, что адгезия кристаллов существенно ослабляется на фоне воздействия нейраминидазы (сиалидазы), фермента, специфически расщепляющего СК. Кроме того, было показано, что адгезия моногидрата оксалата кальция (COM) к клеткам уротелия ингибируется специфическими для сиаловой кислоты лектинами, такими как агглютинин микроба пшеницы (WGA). Лектины – класс белков, способных быстро избирательно и обратимо связываться с сахарами. Данные белки распространены в природе повсеместно и входят в состав различных растений, микро- и макроорганизмов. При этом прикрепление кристаллов COM не изменялось после введения в культуру тканей различных лектинов, не имеющих аффинитета к сиаловой кислоте. На основании полученных результатов был сделан вывод, что СК может рассматриваться в качестве рецептора для связывания кристаллов [36]. Этот вывод отчасти подтверждается тем, что в сравнении со здоровыми людьми у больных МКБ наблюдаются различия в связывании СК с углеводами клеточной поверхности собирательных трубок [38]. Следует однако отметить, что пока не получено прямых неопровержимых доказательств того, что кристаллы образуют прямые физико-химические связи с молекулами СК.

Как бы то ни было, приведенные выше данные позволили цитируемым авторам сформулировать интересную концепцию кристаллизации [36, 41]. Согласно этой концепции в почечных канальцах постоянно и сбалансировано сосуществуют две популяции (поли)анионных соединений. Одна из них (сиаловая кислота) заякорена на апикальной мембране уротелия, а вторая (гликозаминогликаны, гликопротеины, цитрат) находится в свободном состо-

янии в канальцевой жидкости. Эти популяции анионов могут рассматриваться как конкуренты за взаимодействие с поверхностью микрокристалла. Изменения количественного и/или качественного состава анионных молекул и обуславливает сдвиг равновесия и определяет связывание кристаллов с клеточной поверхностью.

Изучение роли сиаловой кислоты в адгезии кристаллов было продолжено в лаборатории C.F.Verkoelen в медицинском центре Роттердама (Нидерланды) [40]. В качестве объекта исследований использовались сливающиеся и несливающиеся культуры тканей почек собак породы *Madin-Darby* (MDCK-I). Они характеризуются тем, что клетки сливающихся культур по своим функциональным свойствам подобны клеткам зрелого уротелия, тогда как несливающиеся культуры имеют сходство с клетками, находящимися в стадии пролиферации и миграции. Напомним, что кристаллы прикрепляются именно к таким клеткам, участвующим в репарации поврежденного эпителия.

Используя лектины, которые специфически связываются с СК, прикрепленной к галактозе в положениях α -2,3 (лектин *Maackia amurensis*, MAL II) и α -2,6 (лектин *Sambucus Nigra*, SNA), была проведена попытка установить, существуют ли отличия в функционировании сиаловой кислоты в клетках сливающихся и несливающихся культур. Оказалось, что клетки обоих типов одинаково обеспечены своеобразным «покрывалом», содержащим сиаловую кислоту, прикрепленную к галактозе с обеих сторон. Кроме того, введение в исследуемые культуры тканей еще одного лектина – агглютинина арахиса, (PNA), который связывается с галактозой только в положениях, лишенных СК, показало, что PNA прикрепляется к клеткам несливающихся культур, а связывание со сливающимися культурами наблюдается только после предварительной обработки нейраминидазой. Повидимому, это можно объяснить тем, что уровень сиализации выше на поверхности сливающихся и дифференцированных культур, что подтверждается при проведении метаболической маркировки [^3H]-глюкозамином. Здесь необходимо отметить, что изучение структуры углеводов клеточной поверхности в ходе дифференцировки клеток показало, что существуют четкие механизмы регуляции появления важных для развития клетки специфических олигосахаридов. Созревание гликокаликса сопровождается увеличением активности сиалилтрансферазы и последующим усилением сиализации терминальных остатков галактозы [42-44]. Иными словами, сиаловой кислоты на поверхности зрелого эпителия гораздо больше, чем на по-

верхности развивающихся клеток, и поэтому логично было бы предположить, что кристаллы должны легче связываться именно с клетками сливающихся культур. Однако, как показали эксперименты, уровень связывания кристаллов с поверхностью развивающихся культур был почти в 10 раз выше, чем таковой в развитых культурах. На первый взгляд, эти наблюдения противоречат гипотезе о стимулирующей роли сиаловой кислоты в рецепции кристаллов. Это противоречие еще более усиливается тем фактом, что свободная сиаловая кислота напрямую практически не взаимодействует с кристаллами (уровень связывания составил примерно 10%). Тем не менее, удаление СК с поверхности клеток как сливающихся, так и несливающихся культур при использовании нейраминидазы приводило к почти двукратному ослаблению адгезии кристаллов [40]. А эти результаты, в свою очередь, уже четко демонстрируют, что СК – стимулятор кристаллизации. Разрешение возникшего противоречия можно извлечь из гипотезы N. Mandel, который еще в 1998 году предположил, что адгезия кристаллического материала нуждается в комплементарных молекулярных образованиях компонентов плазматической мембраны [45]. Согласно его идее, относительно низкий уровень сиализации глюкоконъюгатов на поверхности клеток несливающихся культур лучше сообщается с поверхностью кристалла, чем более глубоко упакованные молекулы сиаловой кислоты на поверхности высоко дифференцированных клеток. Другими словами, аффинитет люминальной поверхности клеток канальцевого эпителия для кристаллов оксалата кальция зависит от трехмерной организации в пространстве терминальных последовательностей сиаловой кислоты, простирающихся от поверхности клеток в периферическое пространство.

Эта идея впоследствии нашла экспериментальное подтверждение. Было установлено, что в обычных условиях кристаллы дигидрата оксалата кальция (COD) связываются с поверхностью клетки через грань 001. Но после предварительной обработки поверхности уротелия нейраминидазой адгезия COD осуществляется уже через грань 100 [29]. Вероятно, это обусловлено различным строением кристалла на этих гранях. Так, на грани 001 потенциальные сайты взаимодействия включают в себя и атомы кальция и молекулы воды, тогда как на грани 100 участки возможного соединения ограничиваются только атомами кальция. Структура грани 001 составлена набором атомов кислорода от двух кристаллографически независимых молекул воды совместно с ионами кальция. Каждый из этих атомов лежит точно на плоскости гра-

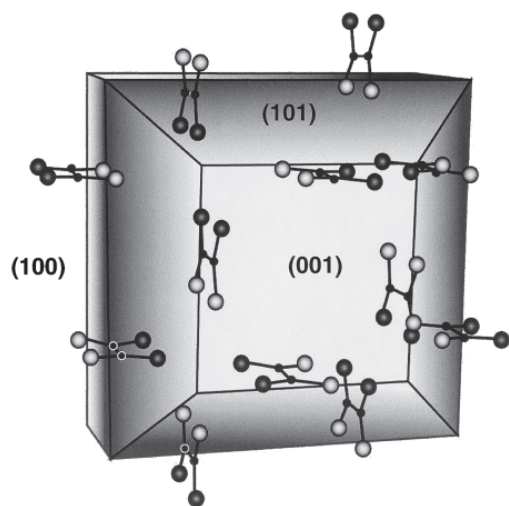


Рис. 3. Структурная организация 001 грани кристалла COD (по Lieske et al., 2001).

ни 001, т.к. они имеют нулевую высоту по оси С (рис. 3). Эта уникальная атомная организация определяет обширную сеть потенциальных участков взаимодействия кристалла с клеткой, которые могут образовывать не только ковалентные, но и водородные связи с анионными молекулами клеточной поверхности. В результате такой стереохимии грани 001 имеют большее сродство к уротелию. А, учитывая тот факт, что это сродство теряется после обработки клеточной поверхности нейраминидазой, можно сделать вывод – грань 001 кристаллов оксалата кальция взаимодействует преимущественно с молекулами сиаловой кислоты, имеющими комплементарное трехмерное строение.

С другой стороны, эти же эксперименты наглядно продемонстрировали, что сиаловая кислота не является единственным связывающим кристаллы веществом на клеточной поверхности, т.к. после удаления СК адгезия COD не прекращалась, хоть и осуществлялась через другую грань. Эти и ряд других наблюдений привели к формулированию гипотезы о том, что СК сама по себе слабо взаимодействует с кристаллом, но при этом является важным веществом, образующим своеобразные мосты между другими молекулами, участвующими в рецепции кристаллического материала, и поверхностью клетки почечного эпителия. Впоследствии были получены экспериментальные подтверждения данной гипотезы, подробное описание которых будет приведено ниже.

Таким образом, по современным представлениям можно выделить два наиболее вероятных механизма стимуляции сиаловой кислотой процесса кристаллизации. Во-первых, СК в определенной степени может образовывать физико-химические связи с кристаллами. При этом решающим фактором является не количество СК, а трехмерная орга-

низация ее молекул в пространстве. И, во-вторых, эта кислота может потенцировать связывающую активность других поверхностных молекул, вовлеченных в рецепцию кристаллов.

Остеопонтин

Остеопонтин – высоко фосфорилированный гликопротеин клеточной поверхности, включающий около 300 аминокислотных остатков, впервые был выделен из минерального матрикса бычьих костей в 1985 году [46]. В процессе изучения было установлено, что роль этого гликопротеина не ограничивается участием в костной минерализации. Оказалось, что остеопонтин является убиквитарным протеином и выявляется во многих тканях и жидкостях организма, включая кровь, мочу и молоко. Выяснилось также, что остеопонтин вовлечен в целый ряд физиологических и патологических процессов и событий, в том числе адгезию и миграцию клеток, продукцию цитокинов, воспаление, заживление и репарацию, аутоиммунные заболевания, канцерогенез [47-49]. Одновременно остеопонтин был обнаружен и в почечной ткани, где его экспрессия наиболее выражена в дистальных отделах нефрона [50, 51]. Мочевая форма остеопонтина имеет название уропонтин, а роль, которую он играет в почках, остается весьма загадочной и неопределенной.

Относительно роли этого гликопротеина в патогенезе нефролитиаза единого мнения до сих пор не существует. Большая часть исследователей склоняется к точке зрения, что остеопонтин является мощным ингибитором адгезии кристаллов на клеточной поверхности. Действительно, получены данные об угнетении остеопонтином нуклеации, роста и адгезии кристаллов оксалата кальция, показана способность гликопротеина прямо ингибировать связывание этих же кристаллов с культивируемыми клетками почечного эпителия [41, 52-54]. Представлены также свидетельства повышения экспрессии остеопонтина и его мРНК в почках *in vivo* в условиях экспериментального нефролитиаза [55-57]. И наконец, эксперименты, проведенные с использованием нокаутных мышей с мутацией гена, кодирующего остеопонтин, показали более высокую чувствительность этих животных к образованию кальций-оксалатных камней в условиях искусственной гипероксалурии [49, 58].

В то же время появились сведения противоположного характера, позволяющие позиционировать этот гликопротеин в качестве промоутера кристаллизации. Так, в 1996 году группа исследователей медицинского университета города Осака (Япония) в 1996 году провела изучение динамики связывания кристаллов оксалата кальция с MDCK клет-

ками [59]. По условиям эксперимента ткани культивировались совместно с остеопонтином, а также с тромбином, известным ингибитором остеопонтина, после чего методом сканирующей электронной микроскопии детектировались изменения адгезии кристаллов и концентрации изотопа кальция (^{45}Ca) вокруг клеток. Оказалось, что концентрация ^{45}Ca в кристаллах, прикрепленных к клеткам, на фоне остеопонтина была в 1,4 раза выше, чем в контроле. В то же время, величина аналогичного показателя в условиях инкубирования клеток с тромбином составила лишь половину от контрольного уровня. На основании данных наблюдений авторы сделали вывод, что остеопонтин стимулирует рецепцию кристаллов [59]. Позднее эта же группа исследователей представила результаты еще ряда экспериментов, демонстрирующих роль остеопонтина в процессе камнеобразования. В частности, ими было обнаружено, что античувствительные олигонуклеотиды, сообщаемые с соответствующими частями генома, кодирующими аминокислотную последовательность остеопонтина, не только ингибировали его экспрессию в MDCK-клетках, но и зависимо от концентрации уменьшали инкорпорирование ^{45}Ca в кристаллы оксалата кальция [60]. Наконец, при количественном определении степени стимулирования камнеобразования было установлено, что депонирование кристаллов уменьшалось более чем на 80% после подавления связывания остеопонтина с клеткой с помощью специфических поликлональных антител. В условиях обработки тромбином величина описываемого показателя уменьшалась на 50-80%, после применения циклического аргинин-глицин-аспартат пептида – на 60-80%, и после обработки клеток туникамицином – на 50-60% [61]. Сходные результаты были получены и в ряде других исследований японских авторов [62, 63].

Проведенные эксперименты демонстрируют, что остеопонтин обладает способностью стимулировать адгезию кристаллов на поверхности клеток. Справедливости ради отметим, что подобных результатов на сегодняшний день не так много, а большинство авторов все же склоняется к мнению об ингибирующей роли остеопонтина в отношении камнеобразования. Тем не менее, нельзя сбрасывать со счетов и вышеуказанную точку зрения.

Как можно объяснить столь противоречивые результаты? Вопрос этот пока остается открытым. Не исключено, что остеопонтин при уролитиазе играет модулирующую роль, проявляя себя и как стимулятор, и как ингибитор кристаллизации в зависимости от определенных обстоятельств. Одним из таких обстоятельств, по-видимому, могут

стать посттрансляционные модификации молекулы остеопонтина. Эти модификации, как установлено, включают фосфорилирование, гликозилирование и сульфатирование гликопротеина [64-67]. Очевидно, степень фосфорилирования остеопонтина имеет прямое отношение к процессу минерализации. По крайней мере, способность ингибировать рост кристаллов гидроксиапатита значительно ослаблялась при дефосфорилировании молекулы остеопонтина, а фосфорилирование, напротив, существенно усиливало его ингибирующую активность в отношении роста кристаллов СОМ [54, 68]. Аналогичные закономерности выявлены в костной ткани, где фосфорилирование рекомбинантного остеопонтина быка усиливало *in vitro* адгезию остеокластов, тогда как частичное дефосфорилирование подавляло этот процесс [69-70]. Сходным образом остеопонтин стимулирует костную резорбцию, только если он должным образом фосфорилирован [71]. Высказанная идея подтверждается результатами недавнего исследования, в котором остеопонтин молока, имеющий 28 мест фосфорилирования, индуцировал образование и рост гидроксиапатита в отличие от костного остеопонтина, модифицированного с помощью 13 фосфатных остатков и ингибировавшего эти процессы [72]. Сходные сведения, полученные и в других исследованиях, указывают на то, что фосфорилирование может представлять собой ключевой момент, определяющий функциональную активность остеопонтина в ходе кристаллизации оксалата кальция в моче [54, 73].

Отдельно следует отметить данные о рецепторах остеопонтина. Установлено, что кроме взаимодействия гликопротеина с целым рядом интегринов, что обуславливает многие аспекты клеточной активности, в том числе адгезию, миграцию, хемотаксис, иммунное модулирование, остеопонтин является лигандом некоторых вариаций рецептора CD44 [73, 74]. Известно, что этот рецептор является убиквитарным трансмембранным гликопротеином, также вовлеченным во многие процессы, включая воспаление [75]. Экспрессия рецепторов CD44 в почках резко возрастает при различных патологических состояниях, включая нефролитиаз, когда они четко определяются на апикальной поверхности кристалл-связывающих клеток дистального нефрона [76]. Интересным и интригующим является то, что этот гликопротеин является рецептором как для остеопонтина, так и для гиалуронана, считающегося сегодня основным промоутером камнеобразования в почках [77-79]. Гиалуронан будет охарактеризован нами отдельно, однако отметим, что, учитывая сходство в

трансдукции сигнала, между остеопонтином и гиалуронатом могут существовать определенные (возможно, реципрокные) взаимоотношения, результирующие в усилении рецепции кристаллического материала. В дополнение отметим, что у крыс почечная экспрессия рецептора CD44, равно как и гиалуронана и остеопонтина, резко возрастала в поврежденных и регенерирующих клетках канальцевого эпителия параллельно с активацией процесса кристаллизации [74]. Этот факт позволил авторам цитируемой работы высказать предположение, согласно которому задержка кристаллов в почке требует повреждения эпителия канальцев в сочетании с апикальной экспрессией гиалуронана, остеопонтина и CD44 [74].

Таким образом, можно заключить что роль остеопонтина в процессе камнеобразования остается не до конца выясненной. Существуют убедительные подтверждения как его ингибирующей, так и стимулирующей активности по отношению к адгезии кристаллов клеточной поверхностью. Вероятно, остеопонтин может проявлять модулирующие свойства в зависимости от определенных условий, главным из которых можно полагать степень посттрансляционной модификации его молекулы.

Фосфатидилсерин

В 1988 году группа исследователей под руководством S.R.Khan из университета Ганесвилла (Флорида, США) установила, что кристаллы оксалата кальция содержат в своем составе некоторое количество липидов. При этом в условиях *in vitro* липидная матрица проявила себя как активный нуклеатор кристаллов CaOx в метастабильном растворе [80, 81]. Впоследствии в этой же лаборатории было установлено, что мембраны клеток ренального эпителия участвовали в процессе кристаллизации солей кальция в почках самцов и самок крыс, а мембраны пузырьков щеточной каймы, изолированные из почек крыс, стимулировали образование кристаллов оксалата кальция. Так, удаление из мочи человека мембранных фракций с помощью фильтрования или центрифугирования приводило к резкому ослаблению индуцированной кристаллизации по сравнению с цельной мочой, а добавление смеси мембранных фосфолипидов вновь активировало этот процесс [82]. Эти наблюдения послужили основанием для предположения о том, что в процессе камнеобразования определенную стимулирующую роль играют мембранные фосфолипиды [83, 84]. Более того, было установлено, что на фоне нуклеации кристаллов оксалата кальция в присутствии кислых фосфолипидов происходит образование нерастворимого комплекса кальций – фосфатидилсерин [81]. Таким образом,

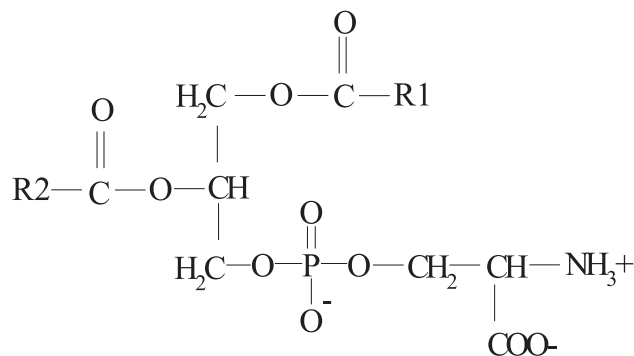


Рис. 4. Структура фосфатидилсерина.

было предположено, что основным мембранным фосфолипидом, участвующим в процессе адгезии кристаллов является именно фосфатидилсерин.

Фосфатидилсерин (ФС) относится к группе глицерофосфолипидов, которые являются производными фосфатидной кислоты. В их состав обычно входят глицерин, жирные кислоты, фосфорная кислота и азотсодержащее соединение. В молекуле фосфатидилсерина таким азотсодержащим соединением является аминокислота серин (рис. 4). Именно за счет данного аминокислотного остатка ФС обладает выраженными кислотными свойствами и несет на себе большой отрицательный заряд. Поэтому ФС может активно взаимодействовать с положительно заряженными кристаллами оксалата кальция.

Как известно, в норме ФС локализуется исключительно во внутреннем слое клеточной мембраны как результат его направленного внутрь клетки транспорта, обеспечиваемого энергозависимым ферментом аминокислотный фосфолипид трансферазой. Это означает, что в обычных физиологических условиях ФС не способен стимулировать адгезию кристаллов [22, 23]. Данный факт хорошо согласуется с мнением о том, что неповрежденный эпителий защищен от прикрепления кристаллического материала. В то же время, установлено, что на фоне повреждения тканей происходит структурная перестройка мембраны, в результате чего молекулы ФС появляются во внешнем липидном слое. Для этого существует два принципиальных пути: потеря симметрии мембранных липидов и потеря полярности клеток канальцевого эпителия. Благодаря исследованиям группы N.S.Mandel показано, что на фоне использования кальциевого ионофора A-23187, изменяющего структуру мембраны клеток IMCD, а также при обогащении культуры ткани фосфолипидными суспензиями или добавлением оксалата происходит значительное усиление адгезии кристаллов. При этом фиксировалась секвестрация ФС с внутренней поверхности мембраны, с

одновременным индуцированием его экспрессии на наружной поверхности [85-87]. Важно отметить, что в указанных экспериментальных условиях введение аннексина V значительно ослабляло прикрепление кристаллического материала к поверхности клетки [86, 88]. Аннексин V – это белок, который избирательно связывается с анионной частью фосфатидилсерина, блокируя его активность [89]. Представленные результаты наглядно демонстрируют стимулирующую роль ФС в процессе камнеобразования.

Потеря мембранной липидной симметрии, вероятнее всего, является результатом апоптоза или клеточного повреждения. Скорость апоптоза в почке является достаточно высокой в связи с постоянно происходящим ремоделированием нефронов. Этот процесс, как правило, четко контролируется, но может неадекватно активироваться в ответ на ишемическое или токсическое повреждение почечных канальцев [90, 91]. Неапоптозное повреждение может быть индуцировано физическими факторами, каковыми являются кристаллы, метаболическими нарушениями или воздействием лекарственных препаратов. И во всех этих ситуациях фосфатидилсерин, по-видимому, оказывается экспонированным на апикальную мембрану почечных канальцев, где участвует в процессе образования нерастворимых комплексов с ионами кальция [92]. Приведенные сведения убеждают, что ФС появляется на внешней поверхности мембраны только в условиях возникновения описанной выше асимметрии. Существует предположение о том, что активатором экспрессии ФС могут являться ионы кальция, локализованные внутри клетки [23].

Второй путь структурной перестройки мембраны, приводящий к изменению полярности клеток, возникает при некоторых патологических состояниях, сопровождающихся ишемическим повреждением уротелия, микроворсинок, при почечном поликистозе [93, 94]. При этом делящиеся клетки в процессе репарации не обретают полярность до тех пор, пока не организовались плотные стыки между ними и не образовались апикальный и базолатеральный домены [94]. В эксперименте потеря полярности достигается применением ЭДТА, разрушающего плотные межклеточные контакты [92, 95]. В экспериментальной ситуации, описанной выше, происходит изменение полярности клеточной мембраны. В этих условиях нарушается строгий порядок расположения апикальных и базолатеральных компонентов мембраны, и, по сути, происходит их смешивание, т.е. часть люминальных компонентов переходит на базальную сторону и наоборот [85].

Необходимо отметить, однако, что адгезия кристаллов оксалата кальция происходит (хотя и менее интенсивно) как на фоне потери полярности, так и в условиях ассиметрической перестройки мембраны. Эти указания на то, что набор промоторов рецепции кристаллов (кандидатов в кристалл-связывающие молекулы) не ограничивается фосфатидилсерином.

Добавим, что некоторые авторы сомневаются в самостоятельной значимости ФС, как кристалл-связывающей молекулы. Они приписывают ФС в основном вспомогательные функции при взаимодействии разных стимуляторов камнеобразования между собой. Это взаимодействие будет рассмотрено нами отдельно.

Таким образом, анионный глицерофосфолипид фосфатидилсерин обладает способностью стимулировать прикрепление кристаллов к клеточной поверхности, а значит, может рассматриваться в качестве промотора камнеобразования. При этом его активность наблюдается не при всех формах повреждения клетки, а лишь при тех, которые сопровождаются изменением симметрии клеточной мембраны. Кроме того, ФС, по-видимому, обладает способностью усиливать активность других кристалл-связывающих молекул.

Белок, связанный с нуклеолином

Относительно недавно поиск новых кристалл-связывающих молекул привел к обнаружению на мембране клеток еще одного гликопротеина, который обладает способностью взаимодействовать с кальциевыми кристаллами. Изучение строения этого гликопротеина показало, что его аминокислотная последовательность на 83% идентична таковой для нуклеолина крыс [96]. Как известно, нуклеолин – основной ядерный фосфопротеин. Он имеет массу примерно 110 kDa, и рассматривается в качестве фактора транскрипции для прерибосомального синтеза РНК. Изначально он локализуется в плотном регионе ядрышек, но в определенных ситуациях также обнаруживается в цитоплазме. Как оказалось, нуклеолин может появляться и на клеточной поверхности, где он, связываясь с мембранами, функционирует как рецептор для липопротеинов, вирусов, внеклеточной матрицы, факторов роста и др. молекул [97-102]. Идентифицированный гликопротеин получил название «белок, связанный с нуклеолином» (nucleolin-related protein, NRP). Описываемый белок подобно нуклеолину имеет молекулярную массу 110 kDa. При этом и NRP, и сам нуклеолин распознаются одними и теми же антинуклеолиновыми антителами [103]. Поэтому обнаруженный белок можно рассматривать в качестве нового члена семейства белков нуклео-

лина. В то же время, компьютерный анализ аминокислотной последовательности NRP показал, что имеются некоторые отличия от молекулы нуклеолина. Так, различаются потенциальные участки гликозилирования; белок, связанный с нуклеолином, имеет больше точек фосфорилирования. Установлено, что роль нуклеолина в значительной степени определяется функциональным состоянием клетки. Показано, например, что в растущих клетках этот протеин постоянно перемещается между цитоплазмой и ядром, выполняя роль своеобразного челнока, участвующего в транспорте рибосомальной РНК [104-106]. И в этих условиях он может обнаруживаться на поверхности клеток. Продемонстрировано, что при этом нуклеолин взаимодействует с ламинином, который является главным компонентом базальных мембран [107, 108]. Эксперименты, проведенные в 2004 году в США, показали, что NRP может локализоваться как на базальной, так и на апикальной мембране клеток, причем в пролиферирующих клетках значительно увеличивается его количество именно на люминальной стороне, достигая пика на поздних стадиях митоза. Важно отметить, что это увеличение на культуре клеток IMCD сопровождалось усилением адгезии кристаллов оксалата кальция [109].

Предполагаемый механизм рецепции кристаллов гликопротеином NRP выглядит следующим образом. Важной особенностью структуры NRP является присутствие длинных отрезков остатков аспарагиновой и глутаминовой кислот, составляющих 62% длины его молекулы. Эти отрезки формируют два больших отрицательно заряженных участка NRP, которые за счет электростатического взаимодействия образуют физико-химические связи с положительно заряженными ионами кальция [109]. Как полагают эти же авторы, в обычных условиях такое строение позволяет NRP функционировать в качестве белка, обеспечивающего хранение ионов кальция в эндоплазматическом ретикулеуме. Однако, в процессе повреждения, пролиферации и миграции клеток описываемый гликопротеин, появляясь на апикальной мембране, взаимодействует с положительно заряженными регионами кристаллов оксалата кальция, обеспечивая адгезию последних на поверхности клеток почечного эпителия.

Таким образом, белок, связанный с нуклеолином, может рассматриваться в качестве кристалл-связывающей молекулы. Это свойство обусловлено наличием в его структуре кислых отрицательно заряженных участков, связывающихся с ионами кальция, что облегчает процесс адгезии кристаллов.

Аннексин II

При изучении других мембранных протеинов, способных участвовать в рецепции кристаллов, ряд авторов неожиданно обнаружил неизвестный белок с молекулярной массой 37 kDa, обладавший способностью мощно стимулировать адгезию кристаллического материала. Изучение аминокислотной последовательности идентифицировало этот протеин как аннексин II. В дальнейшем было показано, что на фоне предварительной обработки клеток уротелия специфическими для этого протеина моноклональными антителами прикрепление кристаллов к поверхности клеток значительно ослабляется, хотя и не исчезает полностью [110]. Эти результаты свидетельствуют о том, что, с одной стороны, аннексин II является стимулятором камнеобразования, но, с другой стороны – не единственным стимулятором этого процесса.

Аннексин II – представитель большого семейства белков, объединенных под названием аннексины. Биологическая роль этих белков заключается в регуляции обмена кальция внутри клетки. Их отличительной структурной особенностью является наличие протеинового ядра, включающего свободную карбоксильную группу [111]. Именно это ядро определяет способность аннексинов связываться с мембраной и ионами кальция. Молекула аннексинов формирует в пространстве плотно упакованный α -спиральный диск с небольшими искривлениями. Выпуклая сторона обращена к мембране и содержит кальций-связывающие регионы. NH_2 -терминальный остаток перемежается с вогнутой поверхностью, где может связываться с различными субстанциями, включая цитоскелет. Протеиновое ядро с $-\text{COOH}$ группой содержит 4 повторения длиной примерно по 70 аминокислот, каждое из которых включает кальций-связывающий регион (порядка 38 аминокислот). Полагают, что этот COOH -терминальный регион является «сердцем» протеина, обеспечивающим его мембранно- и кальций-связывающие свойства [111].

Характеризуя особенности строения аннексина II, необходимо отметить, что в отличие от других представителей данного семейства, его NH_2 -терминальный остаток может связываться с димером p11, в результате чего присоединяется еще одна молекула аннексина II через ее NH_2 -группу. Считается, что образовавшийся тетрамер Ax-II-p11, который в физиологических условиях предназначен для связывания двух мембран, может связывать кристаллы оксалата кальция. Известно также, что аннексин II взаимодействует с мембранными молекулами холестерина через независимый от кальция механизм. Поэтому кальций-свя-

зывающие регионы остаются свободными, а значит, могут участвовать в рецепции кристаллов [111].

Необходимо отметить, что аннексин II, как и все остальные белки этого семейства, изначально локализуется внутри клетки [112]. Тем не менее, в определенных ситуациях он может появляться и на внешней стороне мембраны различных клеток (кератиноциты, эндотелиальные клетки, клетки глиомы и гладкой мускулатуры), где может функционировать в качестве рецептора для цитомегаловирусов, дигидрохолекальциферола и других молекул [113-116]. Например, в эндотелии, как показали расчеты, связанный с мембранами аннексин-II составляет приблизительно 4% от его общего содержания в клетке [114]. Интересные данные были получены при экспериментальном моделировании на культурах почечной ткани болезни Дента (Dent's disease). Данная патология характеризуется генетическими нарушениями, следствием которых становятся протеинурия, гиперкальциурия, нефрокальциноз, нефролитиаз и, в конечном итоге, почечная недостаточность. Этиология болезни Дента заключается в мутации гена CLCN5, кодирующего почечные хлорные каналы. Оказалось, что экспериментальное разрушение гена CLCN5 вызывает перемещение аннексина II из цитоплазмы на люминальную поверхность мембраны, сопровождающееся усилением связывания кристаллов оксалата кальция, которое блокируется специфическими моноклональными антителами [117]. Тем не менее, несмотря на имеющиеся результаты, механизмы появления аннексина II на апикальной мембране нефроцитов остаются до сих пор не до конца выясненными. D.A. Siever и H.P. Erickson предположили, что аннексин II и вовсе может являться структурным белком, интегрированным в апикальную мембрану нефроцитов, т.к. в эксперименте после обработки мембраны раствором Na_2CO_3 (реагента, который гидролизует связи аннексина с поверхностью клетки) аннексин II по-прежнему обнаруживался на апикальной поверхности клеток [112]. Кроме того, было установлено, что мРНК аннексина II активно экспрессируется в некоторых эпителиальных клетках, находящихся в стадии митоза [118].

Следует отметить еще одну важную особенность аннексина II. Как было установлено группой J.C.Lieske и F.G.Toback, кристаллы моногидрата оксалата кальция после прикрепления к поверхности клетки проникают в цитоплазму путем эндоцитоза, где активируют экспрессию некоторых ранних генов, остеопонтина, а также стимулируют деление клетки [119-124]. Этот факт обусловил появление предположения о важной патогенетичес-

кой роли интернализации кристаллов, что будет подробно рассмотрено нами в свое время. Возвращаясь к аннексину, отметим, что на поверхности клетки он локализован с белком кавеолином-1 [110]. Как известно, кавеолин-1 — это ключевой протеин, обеспечивающий процессы экзо- и эндоцитоза [125, 126]. Поэтому, вполне возможно, что аннексин II опосредованно участвует в поступлении кристалла внутрь клетки.

Таким образом, аннексин II является еще одним кристалл-связывающим веществом, роль которого в рецепции оксалата кальция доказана экспериментально.

Гиалуронан

Хорошо известно, что помимо сиаловой кислоты в общий отрицательный заряд мембраны вносят существенный вклад гликозаминогликаны (ГАГ) [23, 127]. Поэтому на основании общих принципов взаимодействия кристалл-клетка возникло предположение, что ГАГ могут являться кристалл-связывающими молекулами. В почке основные ГАГ — это хондроитин сульфат, гепаран III и гиалуронан. Как показали эксперименты, в процессе пролиферации клетки адгезия кристаллов может быть уменьшена хондроитиназой ABC или тестикулярной гиалуронидазой, но не гепариназой III. Таким образом, была исключена возможная роль гепарана сульфата в процессе связывания кристаллов. Дальнейшие эксперименты продемонстрировали, что на фоне обработки почечной ткани гиалуронидазой грибов рода *Streptomyces*, т.е. фермента, который специфически расщепляет гиалуронан, прикрепление кристаллического материала к поверхности клетки существенно ослабляется. Это позволило идентифицировать гиалуронан в качестве кристалл-связывающей молекулы [127]. Основанием для этого стали следующие доказательства: 1 — очищенный гиалуронан напрямую взаимодействует с кристаллами СОМ; 2 — поверхность клеток нессливающихся культур содержит намного больше чувствительного к гиалуронидазе грибов *Streptomyces* материала, чем у сливающихся структур; 3 — обработка гиалуронидазой значительно снижает связывание кристаллов с нессливающимися культурами; 4 — при помощи конфокального сканирующего лазерного микроскопа было показано, что гиалуронан действительно экспрессируется в притягивающих кристаллы клетках развивающихся культур, и не экспрессируется в клетках развитых культур; 5 — после механического повреждения интактных клеток, СОМ кристаллы селективно адгезировались на поверхности экспрессирующих гиалуронан пролиферирующих и мигрирующих клеток в ране [21, 127].

Приведенные экспериментальные данные, полученные в лаборатории J.C.Lieske, неопровержимо свидетельствуют, что гиалуронан является кристалл-связывающей молекулой. Подчеркнем, что на сегодняшний день этот ГАГ считается главным веществом, участвующим в рецепции кристаллов. Более того, некоторые исследователи категорично утверждают, что гиалуронан – единственный рецептор для кристаллов, а все остальные макромолекулы, описанные в нашем обзоре, лишь регулируют экспрессию и активность гиалуронана [23].

В недавнем аналитическом обзоре C.F. Verkoelen приводит подробные сведения относительно функциональной роли гиалуронана в нормальных и патологических условиях [24].

Гиалуронан (гиалуроновая кислота) – это линейный гликозаминогликан, который состоит из множества остатков глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина. Эукариотические клетки продуцируют гиалуронан различной молекулярной массы – от экстремально высокой ($M_r > 10^6$) до очень малой ($M_r \approx 2 \cdot 10^4$). Было подсчитано, что поскольку один дисахарид имеет массу около 400 kDa, гиалуронан представляет собой цепочку из более чем 2500 дисахаридных остатков [24]. Вследствие того, что гиалуронан имеет структуру «случайно развернутой катушки», его олигосахаридные цепи занимают огромные области ткани со способностью притягивать большие количества жидкости. Гидратированная матрица обеспечивает окружающую микросреду, которая является регулятором в формировании клетки и эпителиальной архитектуре в ходе динамических морфогенетических процессов, таких как воспаление, репарация, развитие эмбриона и канцерогенез [130]. Важным является то, что гиалуронан влияет на функциональную активность клеток посредством взаимодействия с такими мембранными рецепторами как CD 44 и CD 168 [128-130]. Полагают, что высокомолекулярный гиалуронан образует внеклеточную матрицу в соединительных тканях, а также участвует в процессах адгезии иммунных клеток, рецепторной передачи сигнала, подавлении иммунитета и т.д. Низкомолекулярный гиалуронан обладает ангиогенными, иммуностимулирующими и провоспалительными функциями [129, 131]. Гиалуроновая кислота имеет принципиальные структурные и функциональные отличия от других ГАГ – она не сульфатирована, не продуцируется в аппарате Гольджи и не инкорпорируется в протеогликаны. Гиалуронан образуется ферментом гиалуронансинтазой (HAS) на внутренней стороне цитоплазматической мембраны, после чего

полимеризуется и выталкивается через мембрану во внеклеточное пространство. У млекопитающих идентифицировано 3 гена, кодирующих экспрессию гиалуронансинтазы. HAS1 считается так называемым housekeeping геном, а HAS2 и HAS3 – это регуляторные энзимы [132]. В катаболизм гиалуронана вовлечены уже упоминавшийся рецептор CD 44, гиалуронидаза (Hyal) и два лизосомальных фермента – β -глюкуронидаза и β -N-ацетилглюкозаминидаза. Три гена, кодирующих соответствующие типы гиалуронидазы, находятся на хромосоме 3p21.3. Известно, что гиалуронидазы 1 и 2 являются основными ферментами соматических тканей. Гиалуронидаза 2 прикреплена к мембране гликозилфосфатидилинозитольными связями и расщепляет высокомолекулярный гиалуронан до конечных продуктов размером примерно 50 олигосахаридов. Гиалуронидаза 1 лизирует гиалуронан до мелких олигосахаридов в лизосомах при соответствующем значении pH. Отметим, что в почках преимущественно функционирует первый тип фермента, который расщепляет гиалуронан до продуктов размером порядка 15 олигосахаридных остатков [131, 133-135].

Гиалуронан играет важную роль в процессе развития почечной ткани. Так, например, мыши с генетическим недостатком HAS2 имеют менее гидратированную и более компактную внеклеточную матрицу. Эти мыши погибают еще в эмбриональном периоде [136]. На развивающихся почках эмбриона цыпленка было показано, что гиалуронан накапливается на ранних стадиях формирования канальцевого эпителия, снижаясь в ходе дифференциации параллельно с повышением активности гиалуронидазы [137]. Кроме того, установлено, что мРНК гиалуронансинтазы 2 и ее соответствующий продукт накапливаются в развивающихся клеточных культурах, и угнетаются в зрелых тканях [138].

В норме гиалуронан присутствует в интерстиции мозгового вещества почки и практически не обнаруживается в корковом веществе и канальцах [24]. В мозговом веществе он обеспечивает структурную поддержку сегментов нефрона и кровеносных сосудов, а также играет важную роль в процессе обращения воды в почках. Установлено, что гиалуронан участвует в реализации эффекта антидиуретического гормона. Последний, стимулируя соответствующие рецепторы, активирует связанную с ними гиалуронидазу, которая расщепляет гиалуронан, обеспечивая транспорт воды через мембрану. Установлено, что экспрессия гиалуронана напрямую зависит от активности вазопрессина и объема мочи. При этом прослеживается

четкая обратная зависимость между содержанием гиалуронана и активностью Hyal [139]. Таким образом, сегодня подтверждены выдвинутые полвека назад блестящие идеи А.Г.Гинецинского о том, что регуляторная роль вазопрессина в процессе реабсорбции воды осуществляется путем модулирования активности гиалуронидазы [140, 141]. Показано, что в условиях водной депривации активность этого фермента выше, а значит самого гиалуронана меньше и, наоборот, на фоне водной нагрузки его количество увеличивается, а активность Hyal – падает [142, 143-145]¹. Важно отметить, что экспрессия гиалуронана существенно увеличивается в патологических условиях, таких как воспаление, ишемия, аутоиммунные повреждения почки, отторжение пересаженной почки, острый некроз канальцев и отравление этиленгликолем [74, 76, 146-149]. Причем этот процесс происходит в тех регионах почки, где в норме гиалуронан никогда не встречается – на апикальной мембране канальцев и в интерстиции коркового вещества [74, 76, 146, 149]. В дополнение напомним, что экспериментально доказана активация синтеза гиалуронана в клетках несливающихся культур, в то время как нефроциты развитого эпителия его не синтезируют. Приведенные данные хорошо согласуются с наблюдениями, показывающими, что адгезия кристаллов начинается только в условиях повреждения почечных тканей.

Характеризуя механизм рецепции кристаллов гиалуронаном, еще раз отметим важные особенности его химического строения. Мономерные дисахариды содержат в своей структуре свободную карбоксильную группу, приобретая за счет нее кислотные свойства и высокий отрицательный заряд. При этом большое количество дисахаридных остатков обеспечивает наличие соответствующего числа карбоксильных групп. Кроме того, особенности пространственной конфигурации его молекулы обуславливают высокую общую реакционно-способную площадь. Вследствие такой структуры гиалуронан поглощает огромное количество молекул воды, в результате чего внеклеточная матрица приобретает вид очень вязкого студенистого геля (вероятно, в этом заключается важный биологический смысл защиты развивающихся кле-

ток). Не исключено, что проплывающие по нефрону кальциевые микрокристаллы попросту механически застревают в этой вязкой матрице [23, 150]. Кроме того, свободные карбоксильные группы гиалуронана реагируют с ионами кальция, входящими в состав кристаллов, образуя с ними физико-химические связи [24]. В результате этих двух процессов гиалуронан прочно связывает большое количество кристаллического материала, причем, как было показано в эксперименте, адгезия кристаллов к этому «покрывалу» не может быть предотвращена физиологическими концентрациями почечных ингибиторов кристаллизации [151]. Это позволило авторам последней работы предположить, что после повреждения ткани естественные защитные механизмы не способны предотвратить процесс нуклеации кристаллов. В дополнение отметим, что гиалуронан, адгезируя кристаллы апатита (фосфата кальция), участвует в формировании так называемых бляшек Рэндала [24]. Давно и хорошо известно, что эти бляшки играют роль своеобразного якоря, к которому прикрепляются кристаллы оксалата кальция, способствуя росту камней [152].

Суммируя все вышеизложенное, резюмируем, что на современном этапе исследований выделяют несколько кристалл-связывающих молекул, главной из которых, по-видимому, является гиалуронан. Прямое участие в рецепции кристаллов других молекул – сиаловой кислоты, остеопонтина, фосфатидилсерина, аннексина II, связанного с нуклеолином белка, не имеет неопровержимых доказательств, хотя их роль в адгезии кристаллического материала не вызывает сомнений. Более того, энзиматическое удаление гиалуронана с поверхности клеток снижает адгезию кристаллов лишь на 50% [127]. Эти результаты свидетельствуют о том, что описанные молекулы (или некоторые из них) все-таки реагируют с кристаллами. Однако многие авторы считают, что эти вещества все же имеют лишь вспомогательное значение, выполняя функцию регуляторов активности гиалуронана. Поэтому следующий раздел нашего обзора будет посвящен возможным взаимодействиям кристалл-связывающих молекул.

Заключение

В заключение обзора суммируем приведенные данные и попытаемся сформулировать наиболее вероятный общий механизм процесса кристаллизации в почках.

В норме клетки уротелия не восприимчивы к воздействию кристаллического материала. Однако при повреждении нефроцитов активируется репарация тканей. В этот период появляются клет-

¹ От редакции. Тезис о том, что гиалуронидазный механизм имеет существенное значение в реализации гидроосмотического эффекта вазопрессина представляется нам весьма спорным, хотя сам факт активации гиалуронидазной системы почек под влиянием данного пептида отрицать нельзя. Скорее следует согласиться с общепринятыми представлениями о том, что усиление транспорта воды при действии антидиуретического гормона происходит вследствие активации V₂-рецептора и последующего встраивания аквапорина-2 в апикальные мембраны клеток эпителия медуллярных отделов собирательных трубок.

ки, находящиеся в стадии миграции и пролиферации. Именно в эти моменты на апикальной поверхности клеток экспрессируются ряд кристалл-связывающих молекул, модулирующих адгезию кристаллов. Ключевую роль в этом процессе играет гиалуронан. Образуя вязкое клеточное «покрывало», он механически улавливает кристаллы. Этот момент нам представляется очень важным, поскольку быстро протекающие с током мочи кристаллы попросту не успевают химически прореагировать с другими мембранными кристалл-связывающими молекулами. Вязкая внеклеточная матрица останавливает ток кристаллов, и уже после этого подключается прямое физико-химическое взаимодействие положительно заряженных кристаллов с молекулами, имеющими отрицательный заряд. В результате на бляшках Рэндела начинается нуклеация кристаллов, в конечном итоге определяющая образование почечных камней.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Kok DJ. Crystallization and stone formation inside the nephron. *Scanning Microsc* 1997; 10: 471-485
- Thamilselvan S, Hackett RL, Khan SR. Lipid peroxidation in ethylene glycol induced hyperoxaluria and calcium oxalate nephrolithiasis. *J Urol* 1997; 157 (3): 1059-1063
- Thamilselvan S, Khan SR. Oxalate and calcium oxalate crystals are injurious to renal epithelial cells: results of in vivo and in vitro studies. *J Nephrol* 1998; 11 (1): 66-69
- Khan SR, Thamilselvan S. Nephrolithiasis: a consequence of renal epithelial cell exposure to oxalate and calcium oxalate crystals. *Mol Urol* 2000; 4 (4): 305-312
- Khan SR. Crystal-induced inflammation of the kidneys: results from human studies, animal models and tissue-culture studies. *Clin Exp Nephrol* 2004; 8 (2): 75-88
- Koul H, Kennington L, Nair G et al. Oxalate-induced initiation of DNA synthesis in LLC-PK1 cells, a line of renal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 205: 1632-1637
- Scheid CR, Koul H, Hill WA et al. Oxalate ion and calcium oxalate crystal interactions with renal epithelial cells. In: Coe FL, Favus MJ, Pak CYC, Parks JH, Preminger GM, eds. *Kidney Stones: Medical and Surgical Management*. Lippincott-Raven Publisher, Philadelphia, 1996; 129-143
- Knoll T, Steidler A, Trojan L et al. The influence of oxalate on renal epithelial and interstitial cells. *Urol Res* 2004; 32 (4): 304-309
- Sarica K, Erbagci A, Yaci F et al. Limitation of apoptotic changes in renal tubular cell injury induced by hyperoxaluria. *Urol Res* 2004; 32 (4): 271-277
- Miyazawa K, Suzuki K, Ikeda R et al. Apoptosis and its related genes in renal epithelial cells of the stone-forming rat. *Urol Res* 2005; 33 (1): 31-38
- Scheid CR, Koul HK, Kennington L et al. Oxalate-induced damage to renal tubular cells. *Scanning Microsc* 1995; 9: 1097-1105
- Selvan R. Calcium oxalate stone disease: role of lipid peroxidation and antioxidants. *Urol Res* 2002; 30 (1): 35-47
- Thamilselvan S, Khan SR, Menon M. Oxalate and calcium oxalate mediated free radical toxicity in renal epithelial cells: effect of antioxidants. *Urol Res* 2003; 31 (1): 3-9
- Rashed T, Menon M, Thamilselvan S. Molecular mechanism of oxalate-induced free radical production and glutathione redox imbalance in renal epithelial cells: effect of antioxidants. *Am J Nephrol* 2004; 24 (5): 557-568
- Khan SR. Hyperoxaluria-induced oxidative stress and antioxidants for renal protection. *Urol Res* 2005; 33 (5): 349-357
- Green ML, Freel RW, Hatch M. Lipid peroxidation is not the underlying cause of renal injury in hyperoxaluric rats. *Kidney Int* 2005; 68: 2629-2638
- Evan AP, Bledsoe SB, Smith SB, Bushinsky DA. Calcium oxalate crystal localization and osteopontin immunostaining in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Kidney Int* 2004; 65 (1): 154-161
- Schepers MS, van Ballegooijen ES, Bangma CH, Verkoelen CF. Crystal cause acute necrotic cell death in renal proximal tubule cells but not in collecting tubule cells. *Kidney Int* 2005; 68 (4): 1543-1553
- Schepers MS, van Ballegooijen ES, Bangma CH, Verkoelen CF. Oxalate is toxic to renal tubular cells only at supraphysiologic concentrations. *Kidney Int* 2005; 68 (4): 1660-1669
- Verkoelen CF, Schepers MS, van Ballegooijen ES, Bangma CH. Effects of luminal oxalate or calcium oxalate on renal tubular cells in culture. *Urol Res* 2005; 33 (5): 321-328
- Verkoelen CF, van der Boom BG, Houtsmuller AB et al. Increased calcium oxalate monohydrate crystal binding to injured renal tubular epithelial cells in culture. *Am J Physiol Renal Physiol* 1998; 274: F958-F965
- Verkoelen CF, Van Der Boom BG, Kok DJ et al. Attachment sites for particles in the urinary tract. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10 (14): S430-S435
- Asselman M, Verkoelen CF. Crystal-cell interaction in the pathogenesis of kidney stone disease. *Curr Opin Urol* 2002; 12: 271-276
- Verkoelen CF. Crystal retention in renal stone disease: A crucial role for the glycosaminoglycan hyaluronan? *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1673-1687
- Finlayson B, Reid F. The expectation of free and fixed particles in urinary stone disease. *Invest Urol* 1978; 15: 442-448
- Vermeulen CW, Lyon ES. Mechanisms of genesis and growth of calculi. *Am J Med* 1968; 45: 684-692
- Land TA, De Yoreo JJ. In situ AFM investigation of growth source activity on single crystals of canavalin. *J Cryst Growth* 1999; 208: 623-637
- De Yoreo JJ, Orme CA, Land TA. Using atomic force microscopy to investigate solution crystal growth. In: Sato K, Nakajima K, Furukawa Y, eds. *Advances in Crystal Growth Research*. Elsevier, Amsterdam, 2000; 361-380
- Lieske JC, Toback GF, Deganello S. Sialic acid-containing glycoproteins on renal cells determine nucleation of calcium oxalate dihydrate crystals. *Kidney International* 2001; 60: 1784-1791
- De Yoreo JJ, Velikov P. Principles of crystal nucleation and growth. *Rev Mineral Geochem* 2003; 54: 57-93
- De Yoreo JJ, Qin SR, Hoyer JR. Molecular modulation of calcium oxalate crystallization. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291 (6): F1123-F1132
- Rabinovich YI, Esayanur M, Daosukho S et al. Adhesion force between calcium oxalate monohydrate crystal and kidney epithelial cells and possible relevance for kidney stone formation. *J Colloid Interface Sci* 2006; 300 (1): 131-140
- Rabinovich YI, Daosukho S, Byer KJ et al. Direct AFM measurements of adhesion forces between calcium oxalate monohydrate and kidney epithelial cells in the presence of Ca²⁺ and Mg²⁺ ions. *J Colloid Interface Sci* 2008; 325 (2): 594-601
- Тиктинский ОЛ, Александров ВП. *Мочекаменная болезнь*. Питер, СПб., 2000; 3-12
- Coe FL, Parks JH, Asplin JR. The pathogenesis and treatment of kidney stones. *N Engl J Med* 1992; 327: 1141-1152
- Lieske JC, Leonard R, Swift H, Toback FG. Adhesion of calcium oxalate monohydrate crystals to anionic sites on the surface of renal epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 1996; 270: F192-F199
- Melick RA, Quelch KJ, Rhodes M. The demonstration of sialic acid in kidney stone matrix. *Clin Sci (Lond)* 1980; 59 (5): 401-404
- Hofbauer J, Fang-Kircher S, Steiner G et al. N-acetylneuraminic acids (nana): A potential key in renal calculogenesis. *Urol Res* 1998; 26 (1): 49-56

39. Yoshimura K, Yoshioka T, Miyake O et al. Investigation of the possible role of sialic acid in calcium oxalate urolithiasis. *Eur Urol* 1998; 33 (1): 111-115
40. Verkoelen CF, Van Der Boom GB, Kok DJ, Romijn JC. Sialic acid and crystal binding. *Kidney Int* 2000; 57: 1072-1082
41. Lieske JC, Leonard R, Toback FG. Adhesion of calcium oxalate monohydrate crystals to renal epithelial cells is inhibited by specific anions. *Am J Physiol* 1995; 268: F604-F612
42. Mann PL. Membrane oligosaccharides: Structure and function during differentiation. *Int Rev Cytol* 1988; 12: 67-96
43. Newman RA, Delia D: Analysis of the bonding of peanut agglutinin (PNA) to leukaemic cells and its relationship to T-cell differentiation. *Immunology* 1983; 49: 147-153
44. Laitinen L, Lehtonen E, Virtanen I. Differential expression of galactose and N-acetylgalactosamine residues during fetal development and postnatal maturation of rat glomeruli as revealed with lectin conjugates. *Anat Rec* 1989; 223: 311-321
45. Mandel N. Crystal-membrane interaction in kidney stone disease. *J Am Soc Nephrol* 1998; 5: S37-S45
46. Franzen A, Heiniger D. Isolation and characterization of two sialoproteins present only in bone calcified matrix. *Biochem J* 1985; 232 (3): 715-724
47. Sodek J, Ganss B, McKee MD. Osteopontin. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000; 11 (3): 279-303
48. Denhardt DT, Noda M, O'Regan AW et al. Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammations, tissue remodeling, and cell survival. *J Clin Invest* 2001; 107 (9): 1055-1061
49. Mazzali M, Kipari T, Ophascharoensuk V et al. Osteopontin – A molecule for all seasons. *QJM* 2002; 95 (1): 3-13
50. Hudkins KL, Giachelli CM, Cui Y et al. Osteopontin expression in fetal and mature human kidney. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 444-457
51. Xie Y, Sakatsume M, Nishi S et al. Expression, roles, receptors, and regulation of osteopontin in the kidney. *Kidney Int* 2001; 60: 1645-1657
52. Shiraga H, Min W, VanDusen WJ et al. Inhibition of calcium oxalate crystal growth in vitro by uropontin: another member of the aspartic acid-rich protein superfamily. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 426-430
53. Worcester EM, Beshensky AM. Osteopontin inhibits nucleation of calcium oxalate crystals. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 760: 375-377
54. Hoyer JR, Asplin JR, Otvos L. Phosphorylated osteopontin peptides suppress crystallization by inhibiting the growth of calcium oxalate crystals. *Kidney Intern* 2001; 60: 77-82
55. Gokhale JA, Glenton PA, Khan SR. Localization of Tamm-Horsfall protein and osteopontin in a rat nephrolithiasis model. *Nephron* 1996; 73: 456-461
56. Jiang XJ, Feng T, Chang LS et al. Expression of osteopontin mRNA in normal and stone-forming rat kidney. *Urol Res* 1998; 26: 389-394
57. Khan SR, Johnson JM, Peck AB et al. Expression of osteopontin in rat kidneys: induction during ethylene glycol induced calcium oxalate nephrolithiasis. *J Urol* 2002; 168 (3): 1173-1181
58. Wesson JA, Johnson RJ, Mazzali M et al. Osteopontin is a Critical Inhibitor of Calcium Oxalate Crystal Formation and Retention in Renal Tubules. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 139-147
59. Yamate T, Kohri K, Umekawa T et al. The effect of osteopontin on the adhesion of calcium oxalate crystals to Madin-Darby canine kidney cells. *Eur Urol* 1996; 30 (3): 388-393
60. Yamate T, Kohri K, Umekawa T et al. Osteopontin antisense oligonucleotide inhibits adhesion of calcium oxalate crystals in Madin-Darby canine kidney cell. *J Urol* 1998; 160 (4): 1506-1512
61. Yamate T, Kohri K, Umekawa T et al. Interaction between osteopontin on madin darby canine kidney cell membrane and calcium oxalate crystal. *Urol Int* 1999; 62 (2): 81-86
62. Yasui T, Fujita K, Asai K, Kohri K. Osteopontin regulates adhesion of calcium oxalate crystals to renal epithelial cells. *Int J Urol* 2002; 9 (2): 100-108
63. Konya E, Umekawa T, Iguchi M, Kurita T. The role of osteopontin on calcium oxalate crystal formation. *Eur Urol* 2003; 43 (5): 564-571
64. Fisher LW, Hawkins GR, Tuross N, Termine JD. Purification and partial characterization of small proteoglycans I and II, bone sialoproteins I and II and osteonectin from the mineral compartment of developing human bone. *J Biol Chem* 1987; 262: 9702-9708
65. Prince CW, Oosawa T, Bulter WT et al. Isolation, characterization, and biosynthesis of phosphorylated glycoprotein from rat bone. *J Biol Chem* 1987; 262: 2900-2907
66. Singh K, DeVouge MW, Mukherjee BB. Physiological properties and differential glycosylation of phosphorylated and nonphosphorylated forms of osteopontin secreted by normal rat kidney cells. *J Biol Chem* 1990; 265: 18696-18701
67. Kasugai S, Todescan R, Nagata T et al. Expression of bone matrix proteins associated with mineralized tissue formation by adult rat bone marrow cells in vitro: inductive effects of dexamethasone on the osteoblastic phenotype. *J Cell Physiol* 1991; 147: 111-120
68. Hunter GK, Kyle CL, Goldberg HA. Modulation of crystal formation by bone phosphoproteins: structural specificity of the osteopontin-mediated inhibition of hydroxyapatite formation. *Biochem J* 1994; 300: 723-728
69. Ek-Rylander B, Flores M, Wendel M et al. Dephosphorylation of osteopontin and bone sialoprotein by osteoclastic tartrate-resistant acid phosphatase. Modulation of osteoclast adhesion in vitro. *J Biol Chem* 1994; 269 (21): 14853-14856
70. Katayama Y, House CM, Udagawa N et al. Casein kinase 2 phosphorylation of recombinant rat osteopontin enhances adhesion of osteoclasts but not osteoblasts. *J Cell Physiol* 1998; 176 (1): 179-187
71. Razzouk S, Brunn JC, Qin C et al. Osteopontin posttranslational modifications, possibly phosphorylation, are required for in vitro bone resorption but not osteoclast adhesion. *Bone* 2002; 30 (1): 40-47
72. Gericke A, Qin C, Spevak L et al. Importance of phosphorylation for osteopontin regulation of biomineralization. *Calcif Tissue Int* 2005; 77 (1): 45-54
73. Christensen B, Kazanekki CC, Petersen TE et al. Cell type-specific post-translational modifications of mouse osteopontin are associated with different adhesive properties. *J Biol Chem* 2007; 282 (27): 19463-19472
74. Asselman M, Verhulst A, De Broe ME, Verkoelen CF. Calcium oxalate crystal adherence to hyaluronan-, osteopontin, and CD44-expressing injured/regenerating tubular epithelial cells in rat kidneys. *J Am Soc Nephrol* 14 : 3155-3166, 2003
75. Pure E, Cuff CA. A crucial role for CD44 in inflammation. *Trends Mol Med* 2001; 7: 213-221
76. Verhulst A, Asselman M, Persy VP et al. Crystal retention capacity of cells in the human nephron: Involvement of CD44 and its ligands hyaluronic acid and osteopontin in the transition of a crystal binding into a nonadherent epithelium. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 107-115
77. Aruffo A, Stamenkovic I, Melnick M et al. CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate. *Cell* 1990; 61: 1303-1313
78. Weber GF, Ashkar S, Glimcher MJ, Cantor H. Receptor-ligand interaction between CD44 and osteopontin (Eta-1). *Science* 1996; 271: 509-512
79. Turley EA, Noble PW, Bourguignon LY. Signaling properties of hyaluronan receptors. *J Biol Chem* 2002; 277 (7): 4589-4592
80. Khan SR, Shevock PN, Hackett RL. Presence of lipids in urinary stones: Results of preliminary studies. *Calcif Tissue Int* 1988; 42: 91-96
81. Khan SR, Shevock P, Hackett RL. In vitro precipitation of calcium oxalate in the presence of whole matrix or lipid components of the urinary stones. *J Urol* 1988; 139: 418-422
82. Khan SR, Maslamani SA, Atmani F et al. Membranes and their constituents as promoters of calcium oxalate crystal formation in human urine. *Calcif Tissue Int* 2000; 66 (2): 90-96
83. Khan SR, Glenton PA, Backov R, Talham DR. Presence

of lipids in urine, crystals and stones: implications for the formation of kidney stones. *Kidney Int* 2002; 62:2062-2072

84. Khan SR, Kok DJ. Modulators of urinary stone formation. *Front Biosci* 2004; 9: 1450-1482

85. Bigelow MW, Wiessner JH, Kleinman JG, Mandel NS. Calcium oxalate-crystal membrane interactions: Dependence on membrane lipid composition. *J Urol* 1996; 155: 1094-1098

86. Bigelow MW, Wiessner JH, Kleinman JG, Mandel NS. Surface exposure of phosphatidylserine increases calcium oxalate crystal attachment to IMCD cells. *Am J Physiol* 1997; 272 (1 Pt 2): F55-62

87. Cao LC, Jonassen J, Honeyman TW, Scheid C. Oxalate-induced redistribution of phosphatidylserine in renal epithelial cells: implications for kidney stone disease. *Am J Nephrol* 2001; 21: 69-77

88. Wiessner JH, Hasegawa AT, Hung LY, Mandel NS. Oxalate-induced exposure of phosphatidylserine on the surface of renal epithelial cells in culture. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10 (14): S441-445

89. Thiagarajan P, Tait JF. Collagen-induced exposure of anionic phospholipids in platelets and platelet-derived microparticles. *J Biol Chem* 1991; 266: 24302-24307

90. Князькин ИВ, Цыган ВН. *Апоптоз в онкоурологии*. Наука, СПб., 2007; 54-55

91. Savil J. Apoptosis and the kidney. *J Am Soc Nephrol* 1994; 5: 12-21

92. Wiessner JH, Hasegawa AT, Hung LY et al. Mechanisms of calcium oxalate crystal attachment to injured renal collecting duct cells. *Kidney Int* 2001; 59: 637-644

93. Leiser J, Molitoris BA. Disease processes in epithelia: The role of the actin cytoskeleton and altered surface membrane polarity. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1225: 1-13

94. Fish EM, Molitoris BA. Alterations in epithelial polarity and the pathogenesis of disease states. *N Engl J Med* 1994; 330: 1580-1588

95. Riese RJ, Mandel NS, Wiessner JW et al. Cell polarity and calcium oxalate crystal adherence to cultured collecting duct cells. *Am J Physiol* 1992; 262: F177-F184

96. Sorokina EA, Kleinman JG. Cloning and preliminary characterization of a calcium-binding protein closely related to nucleolin on the apical surface of inner medullary collecting duct cells. *J Biol Chem* 1999; 274 (39): 27491-27496

97. Semenkovich CF, Ostlund RE Jr, Olson MO, Yang JW. A protein partially expressed on the surface of HepG2 cells that binds lipoproteins specifically is nucleolin. *Biochemistry* 1990; 29 (41): 9708-9713

98. Jordan P, Heid H, Kinzel V, Kubler D. Major cell surface-located protein substrates of an ecto-protein kinase are homologs of known nuclear proteins. *Biochemistry* 1994; 33 (49): 14696-14706

99. Krantz S, Salazar R, Brandt R et al. Purification and partial amino acid sequencing of a fructosyllysine-specific binding protein from cell membranes of the monocyte-like cell line U937. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1266 (1): 109-112

100. de Verdugo UR, Selinka HC, Huber M et al. Characterization of a 100-kilodalton binding protein for the six serotypes of coxsackie B viruses. *J Virol* 1995; 69 (11): 6751-6757

101. Xie J, Briggs JA, Olson MO et al. Human myeloid cell nuclear differentiation antigen binds specifically to nucleolin. *J Cell Biochem* 1995; 59 (4): 529-536

102. Take M, Tsutsui J, Obama H et al. Identification of nucleolin as a binding protein for midkine (MK) and heparin-binding growth associated molecule (HB-GAM). *J Biochem* 1994; 116 (5): 1063-1068

103. Hovanessian AG, Puvion-Dutilleul F, Nisole S et al. The cell-surface-expressed nucleolin is associated with the actin cytoskeleton. *Exp Cell Res* 2000; 261: 312-328

104. Borer RA, Lehner CF, Eppenberger HM, Nigg EA. Major nucleolar proteins shuttle between nucleus and cytoplasm. *Cell* 1989; 56 (3): 379-390

105. Schmidt-Zachmann MS, Dargemont C, Kohn LC, Nigg EA. Nuclear export of proteins: the role of nuclear retention. *Cell* 1993; 74 (3): 493-504

106. Nigg EA. Nucleocytoplasmic transport: Signals, mechanisms and regulation. *Nature* 1997; 386: 779-787

107. Kleinman HK, Weeks BS, Cannon FB et al. Identification of a 110-kDa nonintegrin cell surface laminin-binding protein which recognizes an A chain neurite-promoting peptide. *Arch Biochem Biophys* 1991; 290: 320-325

108. Kibbey MC, Johnson B, Petryshyn R et al. A 110-kD nuclear shuttling protein, nucleolin, binds to the neurite-promoting IKVAV site of laminin-1. *J Neurosci Res* 1995; 42: 314-322

109. Sorokina EA, Wesson JA, Kleinman JG. An acidic peptide sequence of nucleolin-related protein can mediate the attachment of calcium oxalate to renal tubule cells. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2057-2065

110. Kumar V, Farell G, Deganello S, Lieske JC. Annexin II is present on renal epithelial cells and binds calcium oxalate monohydrate crystals. *Am Soc Nephrol* 2003; 14: 289-297

111. Gerke V, Moss SE. Annexins: From structure to function. *Physiol Rev* 2002; 82: 331-371

112. Siever DA, Erickson HP. Extracellular annexin II. *Int J Biochem Cell Biol* 1997; 29: 1219-1223

113. Ma AS, Ozers LJ. Annexins I and II show differences in subcellular localization and differentiation-related changes in human epidermal keratinocytes. *Arch Dermatol Res* 1996; 288: 596-603

114. Hajjar KA, Guevara CA, Lev E et al. Interaction of the fibrinolytic receptor, annexin II, with the endothelial cell surface. Essential role of endonexin repeat 2. *J Biol Chem* 1996; 271: 21652-21659

115. Raynor CM, Wright JF, Waisman DM, Prydzial EL. Annexin II enhances cytomegalovirus binding and fusion to phospholipid membranes. *Biochemistry* 1999; 38: 5089-5095

116. Baran DT, Quail JM, Ray R et al. Annexin II is the membrane receptor that mediates the rapid actions of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D $_3$. *J Cell Biochem* 2000; 78: 34-46

117. Carr G, Simmons NL, Sayer JA. Disruption of clc-5 leads to a redistribution of annexin A2 and promotes calcium crystal agglomeration in collecting duct epithelial cells. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 367-377

118. Chiang Y, Schneiderman MH, Vishwanatha JK. Annexin II expression is regulated during mammalian cell cycle. *Cancer Res* 1993; 53: 6017-6021

119. Lieske JC, Spargo BH, Toback FG. Endocytosis of calcium oxalate crystals and proliferation of renal tubular epithelial cells in a patient with type 1 primary hyperoxaluria. *J Urol* 1992; 148: 1517-1519

120. Lieske JC, Swift H, Martin T et al. Renal epithelial cells rapidly bind and internalize calcium oxalate monohydrate crystals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 6987-6991

121. Lieske JC, Toback FG. Regulation of renal epithelial cell endocytosis of calcium oxalate monohydrate crystals. *Am J Physiol* 1993; 264: F800-F807

122. Lieske JC, Walsh-Reitz MM, Toback FG. Calcium oxalate monohydrate crystals are endocytosed by renal epithelial cells and induce proliferation. *Am J Physiol* 1992; 262: F622-F630

123. Hammes MS, Lieske JC, Pawar S et al. Calcium oxalate monohydrate crystals stimulate gene expression in renal epithelial cells. *Kidney Int* 1995; 48: 501-509

124. Lieske JC, Hammes MS, Hoyer JR, Toback FG. Renal cell osteopontin production is stimulated by calcium oxalate monohydrate crystals. *Kidney Int* 1997; 51: 679-686

125. Scheiffele P, Verkade P, Fra AM et al. Caveolin-1 and -2 in the exocytic pathway of MDCK cells. *J Cell Biol* 1998; 140: 795-806

126. Carozzi AJ, Ikonen E, Lindsay MR, Parton RG. Role of cholesterol in developing T-tubules: analogous mechanisms for T-tubule and caveolae biogenesis. *Traffic* 2000; 1: 326-341

127. Verkoelen CF, van der Boom BG, Romijn JC. Identification of hyaluronan as a crystal-binding molecule at the surface of migrating and proliferating MDCK cells. *Kidney Int* 2000; 58: 1045-1054

128. Toole BP. Hyaluronan in morphogenesis. *J Intern Med* 1997; 242: 35-40

129. Lee JY, Spicer AP. Hyaluronan: A multifunctional, megaDalton, stealth molecule. *Curr Opin Cell Biol* 2000; 12: 581–586
130. Toole BP. Hyaluronan is not just a goo! *J Clin Invest* 2000; 106: 335–336
131. Stern R. Hyaluronan catabolism: A new metabolic pathway. *Eur J Cell Biol* 2004; 83: 317–325
132. Weigel PH, Hascall VC, Tammi M. Hyaluronan synthases. *J Biol Chem* 1997; 272: 13997–14000
133. Laurent TC, Lilja K, Brunnberg L et al. Urinary excretion of hyaluronan in man. *Scand J Clin Lab Invest* 1987; 47: 793–799
134. Sun L, Feusi E, Sibalic A et al. Expression profile of hyaluronidase mRNA transcripts in the kidney and in renal cells. *Kidney Blood Press* 1998; 21: 413–418
135. Knudson W, Chow G, Knudson CB. CD44-mediated uptake and degradation of hyaluronan. *Matrix Biol* 2002; 21: 15–23
136. Camenisch TD, Spicer AP, Brehm-Gibson T et al. Disruption of hyaluronan synthase-2 abrogates normal cardiac morphogenesis and hyaluronan-mediated transformation of epithelium to mesenchyme. *J Clin Invest* 2000; 106: 349–360
137. Belsky E, Toole BP. Hyaluronate and hyaluronidase in the developing chick embryo kidney. *Cell Differ* 1983; 12: 61–66
138. Asselman M, Verhulst A, Van Ballegooijen ES, Bangma CH et al. Hyaluronan is apically secreted and expressed by proliferating or regenerating renal tubular cells. *Kidney Int* 2005; 68: 71–83
139. Кабилова НО. Влияние вазопрессина, dDAVP и AVP-A на экспрессию генов гиалуронан-синтазы 2 и гиалуронидазы 1 и 2 в почке крыс Вистар и Браттлборо с наследственным дефектом синтеза вазопрессина. В: Тез докл VI Сибирск физиол. съезда. Принтэкспресс, Барнаул, 2008; 2: 130
140. Ginetzinsky AG. Role of hyaluronidase in the reabsorption of water in renal tubules: The mechanism of action of the antidiuretic hormone. *Nature* 1958; 182: 1218–1219
141. Ginetzinsky AG. Relationship between urinary hyaluronidase and diuresis. *Nature* 1961; 189: 235–237
142. Иванова ЛН, Кабилова НО, Бондарь АА. Влияние dDAVP, агониста V_2 рецепторов вазопрессина, на экспрессию генов гиалуронидазы 1 и 2 типов в почке крыс Вистар и Браттлборо. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 2007; 93 (5): 494–504
143. Hansell P, Goransson V, Odland C et al. Hyaluronan content in the kidney in different states of body hydration. *Kidney Int* 2000; 58: 2061–2068
144. Ivanova LN, Melidi NN. Effects of vasopressin on hyaluronate hydrolase activities and water permeability in the frog urinary bladder. *Pflugers Arch* 2001; 443: 72–77
145. Law RO, Rowen D. The influence of hyaluronidase on urinary and renal medullary composition following antidiuretic stimulus in the rat. *J Physiol* 1981; 311: 341–354
146. Sibalic V, Fan X, Loffing J, Wuthrich RP. Upregulated renal tubular CD44, hyaluronan, and osteopontin in kdkd mice with interstitial nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 1344–1353
147. Goransson V, Johnsson C, Jacobson A et al. Renal hyaluronan accumulation and hyaluronan synthase expression after ischaemia-reperfusion injury in the rat. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 823–830
148. Lewington AJ, Padanilam BJ, Martin DR, Hammerman MR. Expression of CD44 in kidney after acute ischemic injury in rats. *Am J Physiol Regul Integr* 2000; 278: R247–R254
149. Verhulst A, Asselman M, De Naeyer S et al. Preconditioning of the distal tubular epithelium of the human kidney precedes nephrocalcinosis. *Kidney Int* 2005; 68: 1643–1647
150. Knudson W, Knudson CB. Assembly of a chondrocyte-like pericellular matrix on non-chondrogenic cells. Role of the cell surface hyaluronan receptors in the assembly of a pericellular matrix. *J Cell Sci* 1991; 99: 227–235
151. Schepers MSJ, van der Boom BG, Romijn JC et al. Urinary crystallization inhibitors do not prevent crystal binding. *J Urol* 2002; 167: 1844–1847
152. Evan AP, Lingeman JE, Coe FL et al. Randall's plaque of patients with nephrolithiasis begins in basement membranes of thin loops of Henle. *J Clin Invest* 2003; 111 (5): 607–616

Поступила в редакцию 20.10.2008 г.

Принята в печать 10.02.2009 г.

© В.И.Старостина, В.В.Сперанский, Д.А.Валишин, Р.М.Зарипова, В.П.Головин, 2009
УДК 616.61-002.151-092:577.156.2

*В.И. Старостина¹, В.В. Сперанский², Д.А. Валишин¹, Р.М. Зарипова²,
В.П. Головин²*

ЗНАЧЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ АТРИАЛЬНЫХ НАТРИЙУРЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

V.I. Starostina, V.V. Speranskiy, D.A. Valishin, R.M. Zaripova, V.P. Golovin

THE VALUES OF THE SYSTEM OF ARTERIAL NATRIURETIC PEPTIDES IN PATHOGENESIS OF HEMORRAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME

¹Кафедра инфекционных болезней с курсом дерматовенерологии Института последипломного образования, ²Центральная научно-исследовательская лаборатория Башкирского государственного медицинского университета, г. Уфа, Башкортостан, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Изучение роли показателей системы атриальных натрийуретических пептидов в патогенезе геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС). **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** В исследуемую группу были включены 32 пациента мужского пола в возрасте от 16 до 56 лет с тяжёлым и среднетяжёлым течением ГЛПС без сопутствующих заболеваний почек, сердечно-сосудистой и эндокринной систем. Контрольная группа состояла из 12 человек и соответствовала группе наблюдения по полу, возрасту и данным анамнеза. Концентрацию атриального натрийуретического пептида 1-28 (АНП 1-28) в плазме крови определяли иммуноферментным методом при помощи тест-системы фирмы Peninsula (USA) после предварительной экстракции. Для определения количества N-терминального атриального натрийуретического пропептида 1-98 (NT-проАНП 1-98) в плазме крови использовали иммуноферментный набор EIA for NT-proANP 1-98 фирмы Biomedica (Австрия). Статистическую обработку проводили при помощи стандартного пакета программ Statistica 7.0. Применяли медиану, перцентили, максимальные и минимальные значения показателей, метод Манна – Уитни, метод ранговой корреляции Спирмена. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** В течение олигурического, полиурического и раннего реконвалесцентного периодов у пациентов с тяжёлой формой ГЛПС наблюдается статистически достоверное снижение концентрации АНП 1-28 по сравнению с контрольной группой. У больных со среднетяжёлым течением ГЛПС в полиурическом и раннем реконвалесцентном периодах заболевания концентрация этого пептида достоверно ниже, чем в контрольной группе. Минимальные показатели АНП 1-28 зарегистрированы в полиурическом периоде болезни. У пациентов с тяжёлой формой ГЛПС в течение олигурического, полиурического и раннего реконвалесцентного периодов имеет место статистически достоверное повышение концентрации NT-проАНП 1-98 по сравнению с контрольной группой. У больных со среднетяжёлым течением ГЛПС отмечается достоверное повышение уровня прогормона в плазме только в полиурическом периоде. Максимальные значения NT-проАНП 1-98 зарегистрированы в полиурическом периоде заболевания. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** У больных ГЛПС имеет место снижение концентрации АНП 1-28 в крови, наиболее выраженное в полиурическом периоде заболевания, и повышение уровня NT-проАНП 1-98 с максимумом в полиурическом периоде ГЛПС.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, атриальный натрийуретический пептид 1-28, N-терминальный атриальный натрийуретический пропептид 1-98.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation to evaluate the role of the system of arterial natriuretic peptides in pathogenesis of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS). **PATIENTS AND METHODS.** The investigated group included 32 male patients of the age of 16 to 56 years old with severe and moderately severe flow of HFRS without concomitant renal pathology, cardiac and endocrine system. The control group included 12 patients and correlated with the observed group by gender, age and medical history. The concentration of natriuretic peptide 1-28 (ANP 1-28) in blood was determined by immunoferment method with the Peninsula (USA) test system after previous extraction. For the determination of the amount of N-terminal arterial natriuretic propeptide 1-98 (NT-proASP 1-98) in blood we used immunoferment kit EIA for NT-proANP Biomedica (Austria). The statistic evaluation was made with the use of the standard kit of programs Statistica 7,0. We used median, percentile, maximal and minimal values of the data, Mann –Whitney method, the Spearman rank correlation method. **RESULTS.** During oliguremic, polyuremic and early reconvalescent period in patients with severe form of HFRS was noticed a statistically significant decrease in the concentration of ANP 1-28 in comparison with the control group. In patients with moderate flow of HFRS in polyuremic and early reconvalescent period the concentration for this peptide is significantly lower than in control group. The minimal values of ANP 1-28 was registered in polyuremic period of the disease. In patients with the moderately severe form of the HFRS is noted statistically significant increase of the prohormone level in plasma only in polyuremic period. The maximal values of NT-proANP 1-98 were

registered in polyuremic period of the disease. **CONCLUSION.** In patients with HFRS in noted the decrease in concentration of ANP 1-28 in blood, with the most expression in polyuremic period of the disease, and the increase of the level of NT-proANP 1-98 with the maximal values in polyuremic period of HFRS.

Key words: hemorrhagic fever with renal syndrome, arterial natriuretic peptide 1-28, N-terminal arterial sodiumuremic propeptide 1-98.

ВВЕДЕНИЕ

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) характеризуется широким распространением, высоким уровнем заболеваемости в природных очагах, нередко протекает в тяжёлой форме.

Атриальный натрийуретический пептид 1-28 (АНП 1-28) состоит из 28 аминокислот, имеет молекулярную массу 3080,46 и является одной из основных циркулирующих форм семейства натрийуретических пептидов [1,2]. АНП 1-28 проявляет мощное натрийуретическое и сосудорасширяющее действия, является антагонистом ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) [2]. Синтезируется этот гормон в основном миоэндокринными клетками предсердий и в небольших количествах клетками желудочков сердца из прогормона, состоящего из 126 аминокислот (проАНП 1-126), из которого под действием эндопептидаз образуются собственно АНП 1-28 и N-терминальный атриальный натрийуретический пропептид 1-98 (NT-проАНП 1-98) в эквимолярных количествах. NT-проАНП 1-98 метаболизируется медленнее, чем АНП 1-28, и его концентрация в плазме в 10-50 раз выше, чем концентрация АНП 1-28 [3,4].

АНП 1-28 оказывает значительное влияние на функционирование почек и сердечно-сосудистой системы, патология которых выступает на первый план у больных ГЛПС.

Целью настоящей работы явилось изучение роли системы атриальных натрийуретических пептидов в патогенезе ГЛПС путём определения концентрации АНП 1-28 и NT-проАНП 1-98 в зависимости от периода и степени тяжести ГЛПС и проведения корреляционного анализа с клиническими и лабораторными показателями.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследуемую группу были включены 32 пациента мужского пола в возрасте от 16 до 56 лет с тяжёлым и среднетяжёлым течением ГЛПС без сопутствующих заболеваний почек, сердечно-сосудистой и эндокринной систем. Верификацию диагноза осуществляли при помощи метода флуоресцирующих антител. У всех больных наблюдалось четырёхкратное и более нарастание титра антихантавирусных антител. Наблюдения проводили в течение трёх периодов заболевания – оли-

гурического, полиурического и раннего реконвалесцентного.

Контрольная группа состояла из 12 человек и соответствовала группе наблюдения по полу, возрасту и данным анамнеза.

Концентрацию атриального натрийуретического пептида 1-28 (АНП 1-28) в плазме крови определяли иммуноферментным методом при помощи тест-системы Enzymimmunoassay for ANP alpha 1-28 (human) Peninsula Laboratories Inc. фирмы Peninsula (USA) после предварительной экстракции. Для определения количества NT-проАНП 1-98 в плазме использовали иммуноферментный набор Enzymimmunoassay for NT-proANP 1-98 фирмы Biomedica (Австрия).

Статистическую обработку проводили при помощи стандартного пакета программ Statistica 7.0. В качестве показателей описательной статистики применяли медиану, перцентили, максимальные и минимальные значения показателей. Для определения достоверности различий использовали метод Манна – Уитни, для характеристики корреляционных связей – метод ранговой корреляции Спирмена. При проведении корреляционного анализа показатели пациентов с тяжёлым и среднетяжёлым течением ГЛПС рассматривались совместно.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В течение олигурического, полиурического и раннего реконвалесцентного периодов у больных тяжёлой формой ГЛПС наблюдается статистически достоверное снижение концентрации АНП 1-28 по сравнению с контрольной группой (значения всех показателей представлены в табл. 1, коэффициенты достоверности различий между величинами – в табл. 2). У пациентов со среднетяжёлым течением ГЛПС в полиурическом и раннем реконвалесцентном периодах концентрация этого пептида достоверно ниже, чем в контрольной группе. Минимальные показатели АНП 1-28 зарегистрированы в полиурическом периоде, причём при тяжёлой форме показатель достоверно ниже, чем при среднетяжёлой форме ($U=27,0$; $Z=1,97$; $p=0,049$). Обращает на себя внимание значительный размах значений АНП 1-28, наиболее выраженный в олигурическом периоде болезни (рис. 1).

Отсутствует корреляционная связь между АНП 1-28 и суточным количеством мочи во все

Таблица 1

Показатели АНП 1-28 и NT-проАНП 1-98 у больных ГЛПС в зависимости от периода и степени тяжести заболевания

Показатели		Контрольная группа	Олигурический период		Полиурический период		Период ранней реconvalesценции	
			Средне-тяжёлая форма	Тяжёлая форма	Средне-тяжёлая форма	Тяжёлая форма	Средне-тяжёлая форма	Тяжёлая форма
АНП 1-28, нг/мл	Me	85,4 (n=12)	83,6(n=11)	55,1(n=13)	57,8(n=10)*	33,0(n=11)*	68,2(n=11)	52,8(n=9)
	P25	79,0	37,1	36,4	42,0	25,9	52,7	49,4
	P75	94,3	113,3	75,7	77,6	49,4	74,9	54,5
	min	74,7	17,4	8,8	16,9	23,8	44,4	45,1
	max	103,2	208,6	225,5	108,1	65,0	114,3	72,3
NT-проАНП1-98, нмоль/л	Me	1,2 (n=12)	2,5(n=12)	3,0(n=17)	4,9(n=11)	7,6(n=13)	2,0(n=12)	2,0(n=9)
	P25	0,8	1,0	1,9	3,3	2,9	1,1	1,6
	P75	1,5	4,2	7,1	6,7	8,2	3,1	3,2
	min	0,5	0,2	0,1	1,0	0,1	0,3	1,2
	max	2,1	10,1	12,3	7,3	9,6	4,8	5,1

Значения показателей, достоверно отличающиеся от контрольной группы, выделены жирным шрифтом. Значения показателей, имеющие достоверные различия между величинами у больных с тяжёлым и среднетяжёлым течением ГЛПС, отмечены звёздочкой. Me – медиана, P25 и P75 – двадцать пятый и семьдесят пятый процентиля, min и max – минимальные и максимальные значения показателей.

периоды ГЛПС и между этим гормоном и артериальным давлением (АД) в олигурическом и раннем реconvalesцентном периодах заболевания. Выявлена отрицательная корреляционная связь средней силы ($r=-0,497$; $p<0,05$) между АНП 1-28 и систолическим АД в полиурическом периоде.

У пациентов с тяжёлой формой ГЛПС в течение олигурического, полиурического и раннего реconvalesцентного периодов имеет место статистически достоверное повышение концентрации NT-проАНП 1-98 по сравнению с контрольной группой. У больных со среднетяжёлым течением ГЛПС отмечается достоверное повышение уровня прогормона в плазме только в полиурическом перио-

де. Максимальные значения NT-проАНП 1-98 зарегистрированы в полиурическом периоде болезни. В течение трёх, рассматриваемых нами, периодов заболевания наблюдается чрезвычайно большой диапазон величин этого пептида в плазме крови (рис. 2).

В периоде олигурии значение NT-проАНП 1-98 коррелирует с уровнем креатинина ($r=0,54$; $p<0,05$). В полиурическом и раннем реconvalesцентном периодах ГЛПС не выявлены корреляционные связи между значениями данного прогормона и клиническими показателями.

ОБСУЖДЕНИЕ

Вероятно, причиной своеобразной динамики АНП 1-28 у больных ГЛПС и особенностей корреляционных связей этого гормона с клиническими показателями служат кровоизлияния в области предсердий, сопровождающиеся повышением высвобождения АНП 1-28 с последующим снижением резервных компенсаторно-адаптационных возможностей синтеза и секреции гормона. В пользу этого предположения свидетельствуют литературные данные, где упоминается наличие геморрагий в области предсердий при ГЛПС, выявленное на аутопсии [5,6]. Ха-

Таблица 2
Достоверность различий между значениями АНП 1-28, NT-проАНП 1-98 у больных ГЛПС и показателями контрольной группы (по Манну – Уитни)

Пациенты		Контрольная группа					
		АНП 1-28			NT-проАНП 1-98		
		U	Z	p	U	Z	p
ОП СФ	АНП 1-28	59,0	0,4	0,667	45,5	1,5	0,13
	NT-проАНП 1-98						
ТФ	АНП 1-28	30,0	2,6	0,0090	38,5	2,8	0,0049
	NT-проАНП 1-98						
ПП СФ	АНП 1-28	24,0	2,4	0,018	7,0	3,6	0,00028
	NT-проАНП 1-98						
ТФ	АНП 1-28	0,0	4,1	0,000049	35,5	2,3	0,021
	NT-проАНП 1-98						
РР СФ	АНП 1-28	16,0	3,1	0,0021	42,0	1,7	0,083
	NT-проАНП 1-98						
ТФ	АНП 1-28	0,0	3,8	0,00012	14,5	2,8	0,005
	NT-проАНП 1-98						

ОП – олигурический период; ПП – полиурический период; РР – период ранней реconvalesценции; СФ – среднетяжёлая форма ГЛПС; ТФ – тяжёлая форма ГЛПС. Значения показателей, достоверно отличающиеся от контрольной группы, выделены жирным шрифтом.

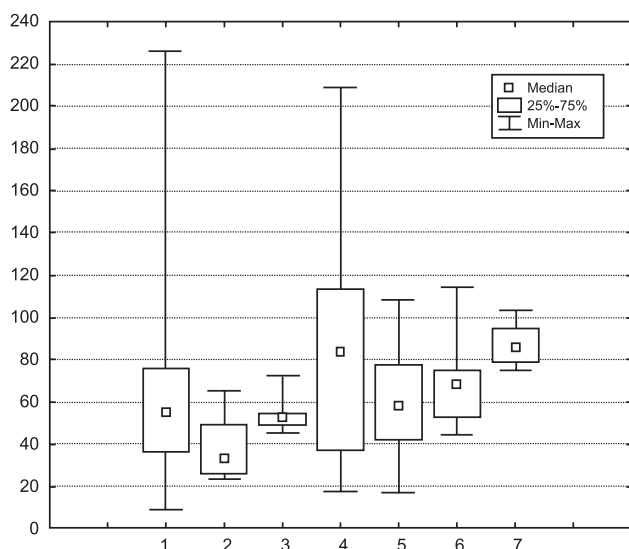


Рис. 1. Показатели АНП 1-28 у больных ГЛПС в зависимости от периода и степени тяжести заболевания. По вертикали – значения концентрации АНП 1-28 (нг/мл), по горизонтали – номера групп. 1, 2, 3 – графическое изображение показателей у пациентов с тяжёлой формой ГЛПС, олигурического, полиурического и раннего реконвалесцентного периодов соответственно. 4, 5, 6 – графическое изображение показателей у пациентов со среднетяжёлой формой ГЛПС, олигурического, полиурического и раннего реконвалесцентного периодов, соответственно. 7 – графическое изображение показателей АНП 1-28 в контрольной группе.

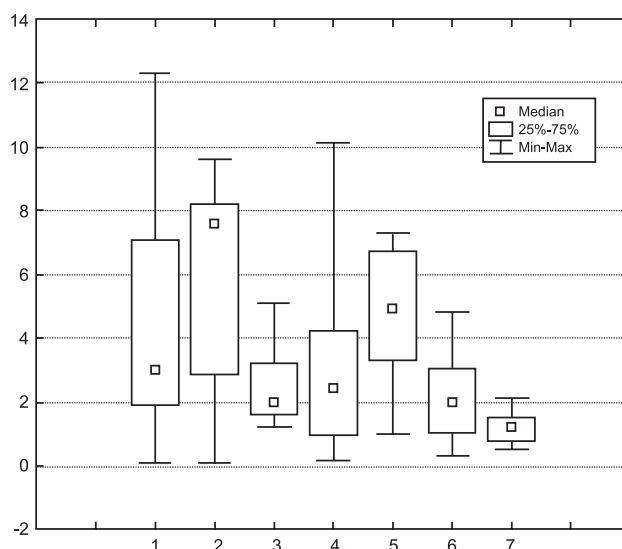


Рис. 2. Показатели NT-проАНП 1-98 у больных ГЛПС в зависимости от периода и степени тяжести заболевания. По вертикали – значения концентрации NT-проАНП 1-98 (нмоль/л), по горизонтали – номера групп. 1, 2, 3 – графическое изображение показателей у пациентов с тяжёлой формой ГЛПС, олигурического, полиурического и раннего реконвалесцентного периодов соответственно. 4, 5, 6 – графическое изображение показателей у пациентов со среднетяжёлой формой ГЛПС, олигурического, полиурического и раннего реконвалесцентного периодов, соответственно. 7 – графическое изображение показателей NT-проАНП 1-98 в контрольной группе.

рактальной чертой ГЛПС И. Цончев назвал кровоизлияния в стенку правого предсердия [6], которое является самой значимой областью выработки АНП 1-28 [2,7]. Следует учесть и тот факт, что миоэндокринных клеток, являющихся продуцентами АНП 1-28, в 1,5 – 3 раза больше в правом предсердии, чем в левом [2,7].

Повышение уровня NT-проАНП 1-98 во все периоды заболевания, его динамика с максимумом в полиурическом периоде связаны с микроповреждениями в области предсердий, сопровождающимися повышением высвобождения NT-проАНП 1-98 и повреждением и/или гемодинамическим блокированием структур, отвечающих за его метаболические превращения. Нарушение почечной гемодинамики протекает по типу «бледная кора, тёмно-красные пирамиды» [5,6], а в клетках дистальных почечных канальцев, расположенных в коре почек, из NT-проАНП 1-98 образуется уродилатин [2].

Наличие положительной связи средней силы между концентрацией NT-проАНП 1-98 и уровнем креатинина можно объяснить следующим образом: чем более выражено поражение почек, тем выше уровень креатинина, тем меньше метаболизируется NT-проАНП 1-98, и тем выше его концентрация в крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. У больных ГЛПС имеет место снижение концентрации АНП 1-28 в крови, наиболее выраженное в полиурическом периоде заболевания.

2. Наблюдается повышение уровня NT-проАНП 1-98 с максимумом в полиурическом периоде ГЛПС.

3. Отсутствие корреляционных связей между АНП 1-28 и суточным количеством мочи, а также показателями АД в олигурическом и полиурическом периодах ГЛПС, вероятно, свидетельствует о поражении тех почечных и сосудистых структур, на которые оказывает влияние этот гормон.

4. Отсутствие многих физиологических корреляционных связей в периоде ранней реконвалесценции свидетельствует о сохраняющейся незавершенности патологического процесса.

5. Показатели АНП 1-28 и NT-проАНП 1-98 не могут служить критериями для разграничения периодов и степеней тяжести ГЛПС.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Kangawa K, Matsuo H. Purification and complete amino acid sequence of a-human atrial natriuretic peptide (a-hANP). *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 118 (1): 131-139
2. Wilkins MR, Redondo J, Brown LA. The natriuretic peptide family. *Lancet* 1997; 349 (9061): 1307-1310
3. Clerico A, Iervasi G, Del Ry S, Giannessi D. Immunoassay

methods for the measurement of natriuretic cardiac hormones (ANP, BNP, and related peptides) in humans. *J Clin Ligand Assay* 1999; 22 (4): 194-204

4. Clerico A, Emdin M. Diagnostic accuracy and prognostic relevance of the measurement of cardiac natriuretic peptides: A Review. *Clin Chem* 2004; 50 (1): 33-50

5. Зеленский АИ, Ковальский ГС, Константинов АА. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом на Дальнем Востоке СССР. Хабаровск, 1979; 30-31

6. Цончев Ив. Поражения почек при некоторых инфекционных заболеваниях. В: *Болезни почек*. Г. Маждраков, Н. Попов, ред. Медицина и физкультура 1976; 725-728

7. Ogawa Y, Itoh H, Nakao K. Molecular biology and biochemistry of natriuretic peptide family. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995; 22 (1): 49-53

Поступила в редакцию 29.09.2008 г.

Принята в печать 10.02.2009 г.

© О.Ф.Сибирева, Е.Ю.Хитринская, Е.В.Калюжина, Л.И.Зибницкая, Л.М.Ткалич, Е.О.Бухарова, В.В.Калюжин, 2009
УДК 613.816-06:616.61]:612.015.32

*О.Ф. Сибирева¹, Е.Ю. Хитринская¹, Е.В. Калюжина¹, Л.И. Зибницкая¹,
Л.М. Ткалич¹, Е.О. Бухарова¹, В.В. Калюжин¹*

СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА КРОВИ И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ У БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛИЗМОМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С ПОРАЖЕНИЕМ ПОЧЕК

*O.Ph. Sibireva, E.Yu. Hitrinskaya, E.V. Kalujina, L.I. Zibnitskaya,
L.M. Tklich, E.O. Buharova, V.V. Kalujin*

THE STATE OF ANTIOXIDANT BLOOD POTENTIAL AND FREE RADICAL LIPID OXIDATION IN ALCOHOLIC PATIENTS, WITH RENAL DAMAGE

¹ Кафедра госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины Сибирского государственного медицинского университета, г. Томск, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Изучение активности свободнорадикальных процессов у больных алкоголизмом (А), ассоциированным с поражением почек (А с ПП), и роли депрессии эффективности регуляторных механизмов, ограничивающих накопление высокотоксичных продуктов свободнорадикального окисления липидов (СрОЛ), в формировании у этих пациентов нефропатии. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Обследовано 57 больных мужского пола (средний возраст $31 \pm 2,8$ года), страдающих А в течение 5 - 10 лет и поступивших в стационар в состоянии неосложненной алкогольной абстиненции. Поражение почек выявили у 17 (29,8%) больных. В контрольную группу вошло 20 здоровых лиц. Изучали активность СрОЛ и антиоксидантной защиты (АОЗ). **РЕЗУЛЬТАТЫ.** У больных А значения изучаемых показателей, отражающих активность СрОЛ, статистически значимо превышали таковые, зарегистрированные в группе здоровых лиц. У этих пациентов обнаружено также угнетение механизмов первой и второй линии АОЗ. Указанные сдвиги были более выражены в группе больных А с ПП. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Активация СрОЛ, развивающаяся на фоне угнетения АОЗ, по-видимому, способствует развитию у больных А нефропатии.

Ключевые слова: алкоголизм, алкогольная нефропатия, свободнорадикальные процессы.

ABSTRACT

THE AIM. To investigate the activity of free radical processes in alcoholic patients (A), associated with renal damage (A with RD), and the role of depression of effectiveness of regulatory mechanisms, restricting the accumulation of high toxicity products of free radical lipid oxidation (FrLO), in the formation of the nephropathy in these patients. **PATIENTS AND METHODS.** Were evaluated 57 male patients (mean age of $31 \pm 2,8$ years), suffering from A during 5-10 years and admitted to the hospital in the state of urgent alcohol abstinence. The renal damage was discovered in 17 (29,8 %) patients. The control group included 20 healthy patients. The activity of FrLO and antioxidant defense was studied. **RESULTS.** In patients A the values of studied features, showing the activity of FrLO, were statistically higher than those in the healthy group patients. In these patients was discovered the depression of the first and second line mechanisms of AOD. Showed deviation was more obvious in the group of patients A with RD. **CONCLUSION.** The activation of FrLO developing on the phone of AOD depression, probably, played a role in the development of nephropathy in A patients.

Key words: alcoholism, alcoholic nephropathy, free radical processes.

ВВЕДЕНИЕ

Поражения почек (гломерулонефрит, гепаторенальный синдром, острый канальцевый некроз, некротический папиллит и др.) при алкоголизме (А) не занимают ведущее место в структуре висцеральных проявлений «алкогольной болезни», но при тяжелых формах последней часто определяют ее прогноз. Однако вопросы эпидемиологии, патофизиологии и лечения алкогольных нефропатий отно-

сятся к числу наименее разработанных аспектов клинической нефрологии [1-3].

При изучении патогенеза поражения почек при А максимальную сложность для понимания представляют механизмы, не связанные с прямым нефротоксическим действием алкоголя и его метаболитов – гемодинамические, иммунные, метаболические. Есть основание полагать, что риск развития, характер, тяжесть и исход алкогольной нефропатии во многом зависят от интенсивности свободнорадикальных процессов, которая опреде-

Калюжин В.В. 634040, г. Томск, ул. Иркутский тр., 214; телефон - (3822) 64-66-83. E-mail: kalyuzhinvv@mail.ru

ляется соотношением факторов активирующих («прооксиданты») и подавляющих («антиоксиданты») окисление липидов [4-5].

Целью настоящего исследования явилось изучение активности свободнорадикальных процессов у больных А, ассоциированным с поражением почек (А с ПП), и роли депрессии эффективности регуляторных механизмов, ограничивающих накопление высокотоксичных продуктов свободнорадикального окисления липидов (СрОЛ), в формировании у этих пациентов нефропатии.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 57 больных мужского пола (средний возраст $31 \pm 2,8$ года), страдающих А в течение 5 – 10 лет и поступивших в стационар в состоянии неосложненной алкогольной абстиненции. У всех пациентов согласно классификации И.Н. Пятницкой [6] была установлена 2-я стадия А. Пациенты с циррозом печени, лабораторными признаками активного гепатита, сопутствующей патологией, а также перенесшие в состоянии абстиненции психоз, из обследования исключались. Вовлечение в патологический процесс почек отмечалось у 17 (29,8%) больных (1-я группа). Вторую группу (группа сравнения) составили 40 пациентов, тщательное обследование которых позволило исключить поражение почек (А без ПП). Различия между пациентами 1-й и 2-й групп по возрасту, продолжительности А, частоте развития абстинентного синдрома, требующего обращения за медицинской помощью в анамнезе (в среднем 2 эпизода в год), и дозам потребляемого алкоголя (в среднем 34 ± 6 мл этанола на 1 килограмм массы тела в неделю) не достигали статистической и клинической значимости. В контрольную группу вошло 20 практически здоровых лиц со сходными демографическими характеристиками.

Программа исследования включала анализ данных медицинских карт амбулаторного больного, рутинные клинические и лабораторные тесты, принятые в нефрологической клинике. Скорость клубочковой фильтрации рассчитывалась с помощью модифицированного уравнения D.W. Cockcroft и M.H. Gault. У всех пациентов выполнено ультразвуковое исследование почек, органов брюшной полости и сердца, зарегистрирована электрокардиограмма, проведена консультация офтальмолога.

Активность СрОЛ и антиоксидантной защиты (АОЗ) определяли в эритроцитах, предварительно отмытых физиологическим раствором от плазмы крови. Оценка состояния СрОЛ включала определение содержания малонового диальдегида (МДА) в тесте с тиобарбитуровой кислотой [7], а также

диеновых конъюгатов (ДК) и липидов в гексановых экстрактах спектрофотометрическим методом [8]. Индекс окисленности липидов (ИОЛ) определяли как отношение количества ДК и содержания липидов [9]. О потенциале АОЗ судили по активности каталазы (КАТ) и супероксиддисмутазы (СОД) [10, 11], а также суммарной концентрации витамина Е, определяемой флюорометрическим методом при возбуждении светом 295 нм с эмиссией 322 нм [12].

Статистический анализ полученных данных проводился при помощи пакета статистических программ «STATISTICA for Windows 5.0» (StatSoft, Inc.). Количественные данные вне зависимости от типа распределения представлены в виде $\bar{X} \pm m$ (среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего). Статистическую значимость различий между двумя независимыми количественными переменными при нормально распределенной совокупности оценивали, используя двусторонний вариант критерия Стьюдента. Аналогичную задачу при распределении признака, отличающегося от нормального, решали, используя U-критерий Манна-Уитни. С учетом числа групп сравнения при оценке статистической значимости различий применяли поправку Бонферрони. Силу связи между изучаемыми показателями и ее направленность выражали через коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клинические проявления абстинентного синдрома (значительный тремор рук, языка или век, анорексия, нарушение ритма сердца, кратковременное повышение системного артериального давления, одышка, потливость, головная боль, тревога, бессонница и др.) и его продолжительность (3 – 5 дней) у пациентов 1 и 2-й групп были идентичны. Транзиторные нарушения пуринового обмена (гиперурикемия была характерна для первых дней абстинентного синдрома) у больных 1 и 2-й групп встречались с одинаковой частотой.

Вовлечение в патологический процесс почек у пациентов 1-й группы было подтверждено наличием эритроцитурии (в среднем 3500 ± 450 эритроцитов в 1 мл), протеинурии (от 0,22 до 0,45 г/сут) и умеренным снижением скорости клубочковой фильтрации (в среднем до $82,3 \pm 5,6$ мл/мин). Характеристики (микрогематурия, минимальная протеинурия) и стойкость (не менее 3 месяцев) мочевого синдрома, его определенная связь со злоупотреблением алкоголя, а также результаты выполненного в клинике обследования позволили обсуждать диагноз одной из наиболее часто встречающихся «почечных» форм алкогольной болезни – хроничес-

**Показатели свободнорадикального окисления липидов
и антиоксидантной защиты у больных 1-й, 2-й групп и здоровых лиц ($\bar{X} \pm m$)**

Показатели	Контроль (n = 20)	1-я группа (n = 17)	2-я группа (n = 40)
МДА, мкмоль/г гемоглобина	0,120±0,004	0,253 ± 0,007**	0,160±0,006*
ИОЛ	0,510±0,020	0,810±0,040**	0,646±0,070*
ДК, Д233/мл	0,451±0,007	0,760±0,090**	0,533±0,040*
КАТ, мкат/г белка	55,19±6,18	39,89±4,16**	61,06±5,11*
Витамин Е, мкмоль/г гемоглобина	10,93±0,38	7,13±0,21*	8,76±0,31*
СОД, ЕД/г белка	243,76±21,35	206,64±26,70*	241,52±22,15

Примечание. Статистическая значимость ($p < 0,017$) различий: * – с группой контроля; ^ – со 2-й группой.

вых липидов липидные радикалы («ловушка радикалов»), оказался ниже, чем в контрольной группе (на 53,3% и 24,7% соответственно; $p < 0,017$).

Активность СОД, осуществляющей восстановление супероксидного анион-радикала, у больных А без

ПП практически не отличалась от контрольных значений, а в группе больных А с ПП статистически значимо превышала (на 17,9%) аналогичный показатель в группе здоровых лиц.

При корреляционном анализе были установлены статистически значимые ($p < 0,05$) взаимосвязи степени усиления СрОЛ и снижения активности АОЗ у пациентов 1-й группы с длительностью А, уровнем креатинина и скоростью клубочковой фильтрации.

Известно, что КАТ является гемсодержащим ферментом, максимум которого находится в эритроците. Уменьшение активности КАТ может быть следствием изменения в ходе СрОЛ конформации белков и липидов мембраны эритроцита, что в свою очередь приводит к увеличению проницаемости последней для перекиси водорода и, в конечном итоге, выходу КАТ из клетки.

Как видно из представленных в таблице данных, у больных А запасы эндогенного токоферола в эритроцитах истощаются. Снижение токоферола вызывает выраженную активацию лизосомальных ферментов, выход которых за пределы лизосом может стать источником целого ряда нежелательных биохимических реакций, оказывающих дестабилизирующее действие на клеточные мембраны [13].

ОБСУЖДЕНИЕ

Как и другим исследователям [1, 14], нам не удалось отметить какие-либо патогномоничные для поражения почек у больных, длительно употребляющих этанол, клинические и лабораторные признаки заболевания. Не выявлено также статистически значимой связи последних с уровнем урикемии.

Несмотря на то, что у всех обследованных пациентов 1-й группы имелись основания обсуждать диагноз «хронический алкогольный гломерулонефрит», мы, естественно, не можем исключить и сочетание А с первичным заболеванием почек. Одно можно утверждать уверенно – активация СрОЛ,

кий алкогольный гломерулонефрит [1].

Оценка активности СрОЛ по концентрации первичного (ДК) и конечного (МДА) продуктов, свидетельствует о повышении интенсивности свободнорадикальных процессов у больных, страдающих А. Как видно из представленных в таблице данных, значения всех изучаемых показателей, отражающих СрОЛ, у больных А были статистически значимо выше, чем в группе контроля. Так, уровень МДА у больных 2-й группы превышал аналогичный показатель в группе контроля на 33%, ИОЛ – на 26,7%, ДК – на 44% ($p < 0,017$ для всех сравнений). У больных А с ПП выявлено еще более значительное накопление продуктов СрОЛ по сравнению с контролем и группой сравнения. Уровень МДА у больных 1-й группы оказался на 110,8% выше, чем в контрольной группе, и на 58,1% превышал значение в группе сравнения ($p < 0,017$ для всех сравнений). Содержание ДК у этих пациентов было также выше, чем в группе здоровых лиц (на 93,5%) и больных 2-й группы (на 42,6%).

Накопление продуктов СрОЛ у больных А ассоциировалось со снижением содержания субстратов окисления, что закономерно привело к повышению значения ИОЛ, которое было максимально выражено в группе пациентов с поражением почек. Значение этого показателя у пациентов 1-й группы было выше ($p < 0,017$), чем у больных А без ПП (на 25,3%) и у здоровых лиц (на 58,8%).

С учетом выявленной у больных А с ПП интенсификации СрОЛ не могут показаться случайными данные, указывающие на депрессию у этих пациентов эффективности механизмов АОЗ. Так, у пациентов А с ПП активность КАТ, разрушающей H_2O_2 в тканях, на 38,4% была ниже таковой у практически здоровых лиц, и на 53,1% ниже, чем в группе больных А без ПП ($p < 0,017$ для всех сравнений).

Как у больных 1-й группы, так и пациентов 2-й группы (межгрупповые различия не были статистически значимы) уровень токоферола, обезвреживающего образовавшиеся при окислении полиено-

развивающаяся на фоне угнетения АОЗ, у этих пациентов является практически облигатной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Можно предполагать формирование у больных А порочного круга – инициированные алкоголем и его метаболитами свободнорадикальные процессы (так называемый неферментативный путь инициации) не ассоциируются с достаточной мобилизацией механизмов АОЗ, что приводит к дополнительной активации СрОЛ и еще большему истощению потенциала систем, ограничивающих накопление образующихся при окислительной деградации липидных гидропероксидов высокотоксичных продуктов, способных «атаковать» молекулы белков и нуклеиновых кислот, определяя тяжелое течение А с вовлечением в патологический процесс различных органов и систем, в том числе и почек.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Николаев АЮ. Поражение почек при алкоголизме. В: Тареева ИЕ, ред. *Нефрология: руководство для врачей*. Медицина, М., 1995, Том 2; 281-298
2. Ставская ВВ. Алкогольные поражения почек. В: Рябов СИ, ред. *Нефрология: руководство для врачей*. СпецЛит, СПб., 2000; 371-379
3. Макаренко СВ. Токсические нефропатии. В: Шулутокко БИ, ред. *Нефрология 2002. Современное состояние проблемы*. Ренкор, СПб., 2002; 526-532
4. Езриелев ГИ. *Новые аспекты патогенеза алкоголизма*. Медицина, Л., 1975
5. Bondy S. Etanol toxicity and oxidative stress. *Toxicol Lett* 1992; 63 (3): 231-241
6. Пятницкая ИН. *Наркомании*. Медицина, М., 1994
7. Андреева ЛИ, Кожемякин ЛА, Кишкун АА. Модификация метода определения перекиси липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. *Лаб дело* 1988; 11: 41-43
8. Косухин АВ, Ахметова ЭС. Экстракция липидов для определения диеновых конъюгатов. *Лаб дело* 1987; 5: 113
9. Погосов АВ. Перекисное окисление липидов при острой и хронической интоксикации. *Вопросы наркологии* 1994; 4: 60-65
10. Королюк МА, Иванова ЛИ, Майорова ИГ, Токарев ВЕ. Метод определения активности каталазы. *Лаб дело* 1988; 1: 24-23
11. Брусов ОС, Герасимов АН. Определение активности супероксиддисмутазы. *Бюлл эксперим биол мед* 1976; 6: 3-7
12. Лебедев АС, Афанасьев СА, Алексеева ЕД. Влияние возраста и ишемии на уровень липоперекисей и липидорастворимых антиоксидантов в сердце человека. *Бюлл эксперим биол мед* 1995; 6: 584-586
13. Селедцов АМ. Перекисное окисление липидов и состояние антиоксидантных систем при опийной наркомании и алкоголизме. *Вопр мед химии* 1995; 3: 50-53
14. Шулутокко БИ. *Нефрология 2002. Современное состояние проблемы*. Ренкор, СПб., 2002; 780

Поступила в редакцию 23.10.2008 г.

Принята в печать 10.02.2009 г.

© О.Н.Силенко, Т.В.Кольцова, Н.Д.Савенкова, Г.Ф.Кутушева, 2009
УДК 616.6-002:618.2/3:613.96

О.Н. Силенко¹, Т.В. Кольцова², Н.Д. Савенкова³, Г.Ф. Кутушева¹

СОЧЕТАННЫЕ МИКРОБНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ОРГАНОВ МОЧЕВОЙ И ПОЛОВОЙ СИСТЕМ У ЮНЫХ БЕРЕМЕННЫХ

O.N. Silenko, T.V. Koltsova, N.D. Savenkova, G.F. Kutusheva

COMBINED MICROBE-INFLAMMATORY DISEASES OF ORGANS OF THE UROGENITAL SYSTEM IN PREGNANT ADOLESCENTS

¹Кафедра детской и подростковой гинекологии факультета повышения квалификации и последипломной подготовки Санкт-Петербургской государственной педиатрической медицинской академии, ²гинекологическое отделение детской консультативной городской больницы N 5 имени Н.Ф.Филатова, ³кафедра факультетской педиатрии Санкт-Петербургской педиатрической медицинской академии, Санкт-Петербург, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬЮ ИССЛЕДОВАНИЯ явился анализ течения сочетанных микробно-воспалительных заболеваний органов мочевой и половой систем у юных беременных. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Проанализировано течение заболеваний органов мочевой и половой систем у 32 пациенток, поступивших на стационарное обследование и лечение с угрозой прерывания беременности. По результатам клинико-лабораторных показателей и микробиологического обследования проведена оценка активности микробно-воспалительных процессов в органах мочевой и половой систем. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Гестационный пиелонефрит 34% диагностирован на 20-23 неделе беременности, в 75% случаев – острый гестационный пиелонефрит. Беременность протекала с угрозой прерывания у всех 32 пациенток. Угрожающий выкидыш наблюдался в 68.5% случаев, угрожающий аборт в – 12.5%, начавшийся выкидыш в – 9%, угрожающие преждевременные роды в – 3%, неполный внебольничный выкидыш в – 3%. Гинекологическая сопутствующая патология выявлена в 65% случаев с преобладанием кандидозного кольпита (47%). Урогенитальный уреоплазмоз наблюдался у 38% пациентов, урогенитальный микоплазмоз у – 33%, бактериальный вагиноз у – 9.5%. В этиологии гестационного пиелонефрита доминировали бактерии семейства *Enterobacteriaceae*: *E.coli* (41%), *Klebsiella spp* (20%), *Proteus spp* (16%). Реже высевались *Staphylococcus spp* (4%), *Candida spp* (8.5%). Из 32 у 7 (21%) подростков проведено прерывание беременности (выскабливание полости матки). **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Выявлена высокая частота сочетанных микробно-воспалительных заболеваний органов мочевой и половой систем: гестационный пиелонефрит с угрозой прерывания беременности в 100%, гинекологическая сопутствующая патология в 65%. Показаны особенности течения гестационного пиелонефрита у юных беременных.

Ключевые слова: гестационный пиелонефрит, юные беременные, клинические проявления, гинекологическая патология.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to analyze the course of combined microbe-inflammatory diseases of organs of the urogenital system in pregnant adolescents. **MATERIALS AND METHODS.** The course of the disease of organs of the urogenital system in 32 patients received by hospital for examination and treatment with threatened termination has been analyzed. By the results of the clinical and laboratory indexes and the microbiological examination the activity of microbe-inflammatory processes has been assessed in the organs of the urogenital system. **RESULTS.** Gestational pyelonephritis 34% is diagnosed at 20-23 weeks of pregnancy, acute gestational pyelonephritis in 75% cases. 32 patients had pregnancy with threatened termination: threatened miscarriage in 68.5%, threatened abortion in 12.5%, imminent miscarriage 9%, imminent premature labor 3%, incomplete out-of-hospital miscarriage 3%. Gynecological associated pathology was identified in 65% cases with predominance of candidal colpitis 47%, urogenital ureaplasmosis 38%, urogenital mycoplasmosis 33%, bacterial vaginosis 9.5%. In the etiology of gestational pyelonephritis bacteria of the family *Enterobacteriaceae* dominated: *E.coli* 41%, *Klebsiella spp* 20%, *Proteus spp* 16%; more rarely *Staphylococcus spp* 4%, *Candida spp* - 8.5% were screened. Termination of pregnancy (curettage of uterine cavity) was identified in 7 adolescents out of 32 (21%). **CONCLUSION.** High frequency of combined microbe-inflammatory diseases of organs of the urogenital system has been identified: gestational pyelonephritis with threatened termination of pregnancy in 100%, gynecological associated pathology in 65%. Special features of the course of gestational pyelonephritis in pregnant adolescents have been shown.

Key words: gestational pyelonephritis, pregnant adolescents, clinical presentations, gynecological.

ВВЕДЕНИЕ

Подростковое материнство и ювенальное акушерство – терминология конца 90-х XX века. Од-

Силенко О.Н. 196105, Санкт-Петербург, ул. Литовская 2. Санкт-Петербургская государственная педиатрической медицинская академия, кафедра детской и подростковой гинекологии. Тел.: (812)- 542-89-84; E-mail: oksana_silenko@mail.ru

нако сексуальная активность подростков вызвала возрождение этого явления и коэффициент рождаемости у 15-19 летних девушек составил 14-15%, что в 2,5 раза выше, чем 30 лет назад [1].

Среди экстрагенитальной патологии инфекция мочевых путей встречается часто и по распро-

ранённости уступает только острым респираторным инфекциям [2].

В структуре заболеваемости студенток первое ранговое место принадлежит болезням мочеполовой системы – 17,3%. Гинекологическая заболеваемость в пубертатном периоде составляет от 11 до 30% [3]. Установлено, что существенный рост заболеваемости по классу болезней мочеполовой системы произошёл в основном за счёт увеличения числа выявленных гинекологических заболеваний [3,4]. С одной стороны, сочетанные патологические процессы взаимно отягощают друг друга, а с другой стороны, нарушения в одной системе может имитировать патологию в другой [5].

Частота пиелонефрита при беременности, по данным отечественных авторов, колеблется от 12,2 до 33,8% и имеет тенденцию к росту [6,7]. Среди подростков частота пиелонефрита достигает 37% [3,8]. У подростков, страдающих пиелонефритом, осложнённое течение беременности наблюдается в 70,4% случаев, осложнённое течение родов – в 75,2% случаев [8]. Из осложнений беременности у юных подростков с гестационным пиелонефритом (ГП) – тяжёлые формы гестозов (19,4%), преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты (7,7%), многоводие (10,4%) [9]. Гинекологическая патология в 60% случаев выявлена у юных беременных с гестационным пиелонефритом [10].

Беременность на фоне пиелонефрита может закончиться преждевременными родами влияющими на основные перинатальные показатели [11-13].

Беременные подростки с пиелонефритом относятся к группе высокого риска по развитию акушерских и перинатальных осложнений и требуют оптимизации методов их диспансерного наблюдения, профилактики, лечения [12].

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Цель исследования заключалась в оценке течения и оптимизации тактики ведения сочетанных микробно-воспалительных заболеваний органов мочевой и половой систем у юных беременных. В исследование включены 32 девушки-подростка в возрасте 13-17 лет, поступивших в гинекологическое отделение ДГКБ им.Филатова и в нефрологическое отделение СПбГПМА с угрозой прерывания беременности на сроке 5-29 недель беременности и/или с подозрением на сопутствующую инфекцию мочевой системы. У юных беременных с ГП проводилась оценка степени активности микробно-воспалительного процесса в органах мочевой и половой систем, функциональное состояние почек (проба Зимницкого, проба Реберга), анато-

мо-функциональное состояние органов мочевой и половой систем по ультразвуковому исследованию (УЗИ).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из 32 у 24 (75%) пациенток диагностирован острый пиелонефрит, у 8 (25%) – обострение хронического пиелонефрита (рис. 1).

Пик возникновения гестационного пиелонефрита у девушек пришёлся на 20-23 неделю беременности, в отличие от сроков обострения хронического пиелонефрита. При сборе анамнеза у пациенток установлены перенесённые в детстве инфекционные заболевания – 28 (87,5%), заболевания желудочно-кишечного тракта (хронический гастрит, дискинезия желчевыводящих путей) – 6 (19%), мочевой системы – 8 (25%), гинекологическая патология (дисменорея, вульвит) – 7 (22%). Отягощённый аллергический анамнез (лекарственная и пищевая аллергия) отмечен у 6 (19%) подростков. Из 32 девушек, первая беременность у 26 (81%), повторнобеременные – 6 (19%). Заинтересованность в беременности проявили 19 беременных, состояли на учёте в женской консультации только 6 девочек.

Из 32 юных беременных сексуальный дебют отмечен в 16 лет – 25%, в 15 лет – 28%, в 17 лет – 3%, в 14 лет – 21%, в 13 лет – 12%, в 12 лет – 3%. Наличие до настоящей беременности более 4-х половых партнёров отметили 18% подростков, от 2-х до 4-х половых партнёров – 46%, наличие одного полового партнёра – 28%. Барьерную контрацепцию использовали только 6 (18%) девушек.

Клиническая манифестация заболевания, характеризующаяся повышением температуры тела, болезненным мочеиспусканием, болевым ощущением в области поясницы и (или) живота, положительным симптом поколачивания выявлена в 66% у девушек с ГП и в 25% с обострением хронического пиелонефрита.

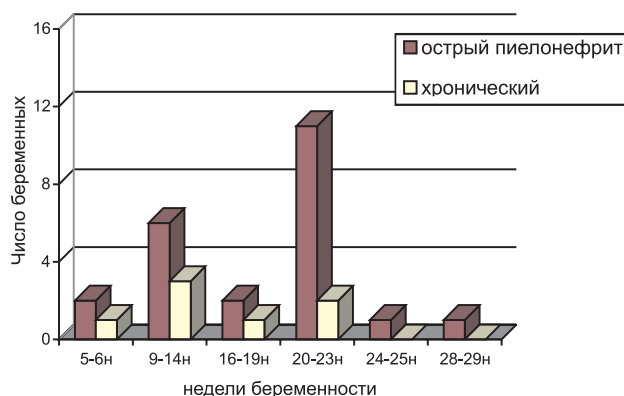


Рис. 1. Распределение пациенток по сроку беременности на момент развития пиелонефрита.

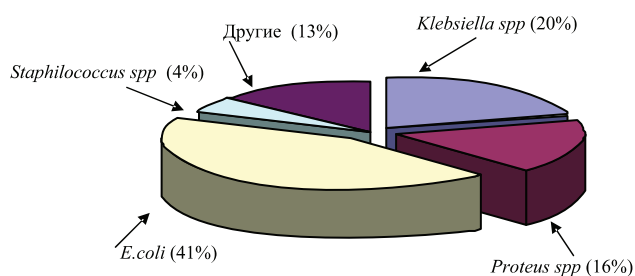


Рис. 2. Этиологическая структура гестационного пиелонефрита.

При объективном гинекологическом исследовании из 32 пациенток гиперемия наружных половых органов выявлена у 8 (25%), патологические выделения у 10 (31%). При проведении вагиноскопии признаки кольпита отмечены у 11 (34%) пациенток, эктопия шейки матки у 16 (50%).

В клинических анализах крови у 32 (25%) выявлен лейкоцитоз ($12,3-30,5 \times 10^9/\text{л}$) со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, умеренное снижение уровня гемоглобина (Hb 90-100 г/л), повышение СОЭ. При лабораторных исследованиях мочи у всех больных определялась лейкоцитурия, микрогематурия, микропротеинурия, бактериурия. При исследовании мочи по методу Зимницкого отмечена гипостенурия.

По УЗИ органов малого таза из 32 пациенток у 4-х диагностирована замершая маточная беременность на сроке 7-11 недель, у 3-отслойка плаценты при наличии признаков жизнедеятельности плода. При УЗИ органов мочевой системы у 21 из 32-х выявлена пиелозктазия.

В результате проведения клинического, лабораторного и инструментального обследования из 32 юных беременных диагностирован угрожающий выкидыш в 68,5% случаев, угрожающий аборт – 12,5%, начавшийся выкидыш – 9%, угрожающие преждевременные роды – 3%, неполный внеблуждающий выкидыш – 3%. Сопутствующая экстрагенитальная патология выявлена у 12 (37%) из 32 пациенток: анемия беременных – у 25%, ОРВИ (острый ринит, фарингит) – у 9%, эпилепсия беременных – у 3%.

Сопутствующая инфекция половых путей выявлена у 21 (65%) из 32 пациенток: кандидозный кольпит (47%), урогенитальный микоплазмоз (33%), урогенитальный уреаплазмоз (47%), трихомониаз (14%), эрозивный вульвовагинит (5%), цервицит (5%), хламидиоз (14%), бактериальный вагиноз (9,5%; табл. 1). Отмечено преобладание кандидозного кольпита у юных беременных. Сочетание урогенитального микоплазмоза с уреаплазмозом отмечено у 5 пациенток, кандидозного кольпита с уреаплазмозом у 2-х.

При изучении этиологической структуры пие-

лонефрита у 75% пациентов при бактериологическом исследовании мочи высеяны следующие микроорганизмы: *E. coli* – 41%, *Klebsiella spp* – 20%, *Proteus spp* – 16,5%, *Staphylococcus spp* – 5%, *Candida spp* – 8,5%, *Ureaplasma urealiticum* и *Mycoplasma hominis* – 4,5% (рис. 2).

При бактериологическом исследовании мочи и бактериоскопическом исследовании содержимого влагалища и цервикального канала, а также при обследовании девочек на оппортунистические инфекции выявлено нарушение микробиоценоза (табл. 2).

Согласно полученным данным, основными этиологическими факторами кольпита и вульвовагинита являются: *E. coli* – 37,5%, *Staphylococcus epidermitis* – 28%, *Candida albicans* – 25%, *Enterococcus faecalis* – 9%, *Staphylococcus aureus* – 3%.

Сочетание нескольких видов возбудителей выявлено у 8 девочек: *Candida albicans* и *Ureaplasma urealiticum* (2), *Ureaplasma urealiticum* и *Mycoplasma hominis* (4), *Ureaplasma urealiticum* и *Mycoplasma hominis* и *Trichonema vaginalis* (2).

Всем девочкам назначалась инфузионная и дезинтоксикационная терапия, эмпирическая и этиотропная антибактериальная терапия, также симптоматическое лечение. Выбор антибактериального препарата определялся особенностью фармакокинетики в организме матери и плода, способностью проникать через плаценту и оказы-

Таблица 1
Структура гинекологической патологии

Гинекологическая патология	n	%
Кандидозный кольпит	10	47
Урогенитальный микоплазмоз	7	33
Урогенитальный уреаплазмоз	8	38
Трихомониаз	3	14
Хламидиоз	3	14
Бактериальный вагиноз	2	9,5
Эрозивный вульвовагинит	1	5
Цервицит	1	5

Таблица 2
Спектр возбудителей

Ведущий возбудитель	Цервикальный канал		Уретра	
	n	%	n	%
<i>E. coli</i>	12	37,5	6	18
<i>Staphylococcus epidermicus</i>	9	28	3	9
<i>Candida albicans</i>	8	25	3	9
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	9	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	3	–	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	–	–	1	3
<i>Ureaplasma urealiticum</i>	8	–	–	–
<i>Mycoplasma hominis</i>	7	–	–	–
<i>Gardnerella vaginalis</i>	2	–	–	–
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3	–	–	–
<i>Trichonema vaginalis</i>	3	–	–	–

вать повреждающее воздействие на эмбрион и плод, сроком беременности [13]. Использовались синтетические аналоги пенициллина (амоксциллин) или препарат цефалоспоринового ряда (цефотаксим) по ступенчатой схеме: в течение 3-4 дней лечение проводилось парентеральными формами антибиотиков, в дальнейшем (в течении 7-8 дней) – пероральными формами препаратов. Критерием излеченности явилось уменьшение и последующее исчезновение клинических проявлений заболевания, позитивная динамика при ультразвуковом исследовании почек и отсутствии патологических изменений в моче.

Местное лечение вульвовагинита включало в себя санацию половых органов антисептическими растворами, введение интравагинально антибактериальных средств («Тержинан», «Гексикон»). В случае специфического вульвовагинита всем девочкам назначалась антибактериальная терапия перорально в период ремиссии пиелонефрита: «Вильпрофен» по 7-10 дневной схеме (500мг × 2 раза в сутки) в комбинации с вагинальными препаратами.

Из 32 пациенток – 22 (68%) выписаны в удовлетворительном состоянии под наблюдение гинеколога женской консультации. 8 (25%) девушек выписаны в удовлетворительном состоянии по собственному желанию, отказавшись от дальнейшей госпитализации на 3-й–5-й день пребывания в стационаре. 1 (3.5%) – на сроке беременности 29нед переведена в родильный дом для дальнейшего наблюдения, 1 (3.5%) – переведена в КВД для обследования на сифилис. Прерывание беременности (выскабливание полости матки) по медицинским показаниям и по желанию пациенток проведено у 7 (21%) из 32 подростков.

ОБСУЖДЕНИЕ

Гестационный пиелонефрит у юных беременных девушек является частой проблемой нефрологии и ювенильного акушерства [8]. Анализ течения беременности у 32 беременных подростков в 65% показал сочетание гинекологической и уро-нефрологической патологии. Наиболее частой причиной вульвовагинита явился кандидозный кольпит (47%), урогенитальный уреаплазмоз (38%), урогенитальный микоплазмоз (33%), хламидиоз (14%). Угроза прерывания беременности наблюдалась у всех исследуемых подростков с гестационным пиелонефритом.

По данным проведённого нами исследования выявлено, что из 32 девушек в 75% случаев диагностирован острый пиелонефрит и у 25% – обострение хронического пиелонефрита. В 66% слу-

чаев у беременных девушек гестационный пиелонефрит протекал как тяжёлое общее инфекционное заболевание с выраженной интоксикацией организма и мочевым синдромом (лейкоцитурией, бактериурией, протеинурией). В этиологии гестационного пиелонефрита выявлена доминирующая роль грамотрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae* (*E.coli* – 41%).

В нашем исследовании из 32 у 7 (21%) юных беременных беременность прервана в связи с начавшимся выкидышем и по желанию беременной.

В результате проведённого лечения гестационного пиелонефрита по ступенчатой схеме терапии в течение 3-х – 4-х дней) лечение проводилось парентеральными формами антибиотиков, в дальнейшем – пероральными формами препаратов в ещё 7-8 дней. У 27 юных беременных достигнута ремиссия.

Полученные результаты согласуются с данными Б.Л. Гуртовой, Л.И. Мальцевой, В.И. Кулакова, А.И. Емельяновой и А.О. Вартановой [15 – 19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Уточнены особенности этиологии и течения гестационного пиелонефрита у юных беременных. Все случаи сопровождались угрозой прерывания беременности. Гестационному пиелонефриту в 65% сопутствовала генитальная инфекция.

Результаты исследования подтверждают высокую частоту сочетанной урогенитальной патологии у юных беременных, что требует проведения профилактических осмотров группы девушек с высоким риском развития пиелонефрита, а также своевременного лечения обострений уже имеющих заболеваний почек.

Профилактика пиелонефрита у девушек должна начинаться с самого детства: рациональное питание, закаливание организма, санация очагов хронической инфекции, привитие навыков здорового образа жизни. В подростковом возрасте в беседе с девушками особое внимание следует уделять вопросу о заболеваниях передающихся половым путём, вреде аборт и влиянию заболеваний матери во время беременности на плод и дальнейшее развитие ребёнка, здоровье самой девушки-женщины.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кулаков ВИ, Уварова ЕВ. Особенности формирования репродуктивного здоровья девочек современной России. *Материалы форума «Репродукция человека-2003»*. М., 2003; 54.
2. Смирнов ЛВ, Каюков ИГ. Место нитрофуранов в современной терапии инфекций мочевых путей. *Нефрология* 2006; 10(4): 103

3. Куликов АМ, Медведев ПН. *Здоровье подростков*. Шарапова ОВ, ред. *Руководство для врачей*. СПб., 2007; 63-70
4. Куликов АМ, Кротин ПН. *Здоровье девушек: соматические и репродуктивные аспекты. Учебное пособие*. СПбМАПО, СПб., 2000; 7-39
5. Кохреидзе НА, Кутушева ГФ, Смирнова ОВ. Особенности урогинекологической патологии детского и подросткового возраста. *Материалы XI Европейского Конгресса детских и подростковых гинекологов*. «Репродуктивное здоровье молодежи-здоровье следующих поколений». СПб., 2008; 43
6. Никольская ИГ. *Акушерские и перинатальные аспекты пиелонефрита*: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1999; 23
7. Ткачук ВН, Аль-Шукри СХ, Лукьянов АЭ. Острый гестационный пиелонефрит. *Нефрология* 2000; 4(2): 130-133
8. Мустафина ГГ. *Гестационный процесс у подростков, больных пиелонефритом*: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Караганда, 2003; 17
9. Мустафина ГГ. Перинатальные потери у девочек-подростков страдающих пиелонефритом. *Материалы II Российского форума «Мать и дитя»*. М., 2000; 105
10. Силенко ОН, Кутушева ГФ, Савенкова НД, Семёнова ОА. Особенности пиелонефрита у беременных 13-17 лет. *Материалы VII Российского конгресса «Современные технологии в педиатрии и детской хирургии»* М., 2008; 252
11. Авдошин ВП, Морозов СГ, Соболев ВА и др. Оценка эффективности лечения острого гестационного пиелонефрита. *Акушерство и гинекология* 2005; (3): 23-25
12. Мустафина ГГ, Кульбаева КЖ и др. Прогнозирование акушерских и перинатальных осложнений у женщин-подростков, страдающих пиелонефритом. *Материалы II Российского форума «Мать и дитя»*. М., 2000; 106
13. Мустафина ГГ. Течение беременности и родов у женщин-подростков с пиелонефритом. *Материалы II Российского форума «Мать и дитя»*. М., 2000; 106
14. Мустафина ГГ. Перинатальные потери у девушек-подростков, страдающих пиелонефритом. *Материалы II Российского форума «Мать и дитя»*. М., 2000; 105
15. Гуртова БЛ, Емельянова АИ, Пустотина ОА. Инфекции мочевыводящих путей у беременных и родильниц. *Трудный пациент* 2005; (9): 26-28
16. Мальцева ЛИ, Чернов ВМ, Фаттахова АР. Эффективность вильпрафена для санации грудного молока у женщин со специфической урогенитальной инфекцией. *Акушерство и гинекология* 2003; (1): 46-49
17. Кулаков ВИ, Гуртовой БЛ, Емельянова АИ. Научно-практические итоги диагностики и лечения пиелонефрита беременных и родильниц (30-летний опыт). *Акушерство и гинекология* 2005; (6): 3-8
18. Емельянова АИ, Гуртова БЛ и соавт. Принципы диагностики и терапии (формулярная система) инфекции мочевыводящих путей у беременных и родильниц. *Акушерство и гинекология* 2003; (3): 3-8
19. Вартанова АО, Кирющенко АП, Довлатян АА. Особенности течения беременности, родов и перинатальные исходы у пациенток с острым гестационным пиелонефритом. *Акушерство и гинекология* 2006; (2): 8-11

Поступила в редакцию 30.09.2008 г.

Принята в печать 10.02.2009 г.

© А.С.Аль-Шукри, Д.И.Данильченко, 2009
УДК 616.62-006.6-07-036.8:577.112

А.С. Аль-Шукри¹, Д.И. Данильченко¹

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ И ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАТРИКС-МЕТАЛЛОПРОТЕАЗ В МОЧЕ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

A.S. Al-Shukri, D.I. Danilchenko

THE DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC VALUE OF THE DETERMINATION OF MATRIX-METALLOPROTEAS IN THE URINE OF PATIENTS WITH URINARY BLADDER CANCER

¹Кафедра урологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П.Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ РАБОТЫ – изучить влияние глубины инвазии и степень дифференцировки опухолевого процесса на уровень матрикс-металлопротеаз 2 и 9 в моче у больных раком мочевого пузыря. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Обследовали 71 больного раком мочевого пузыря. Группу сравнения составили 14 больных хроническим циститом, а контрольную группу – 45 больных, не имеющих болезней мочевого пузыря, обструкции и инфекции мочевыводящих путей. Уровень металлопротеаз определяли методом цимографии. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Доказано, что ферменты протеолиза мочи ММП-2 и ММП-9 являются высокочувствительными показателями наличия рака мочевого пузыря, а их концентрация зависит от глубины инвазии и степени дифференцировки опухоли и указывает на прогноз течения болезни. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Для диагностики и неинвазивного определения глубины инвазии и степени дифференцировки рака мочевого пузыря целесообразно методом цимографии определять ММП-2 и ММП-9 в моче.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, прогноз заболевания, матрикс-металлопротеазы.

ABSTRACT

THE AIM. To study the influence of the depth of the invasion and degree of the differentiation of the tumor processes on the level of matrix-metalloproteas 2 and 9 in the urine of the patients with urinary bladder cancer. **PATIENTS AND METHODS.** 71 patients with urinary bladder cancer were evaluated. The comparison group consisted of 14 patients with chronic cystitis, and the control group consisted of 45 patients, without any urinary bladder problems, obstruction and infection of urinary tract. The level of metalloproteas was determined with the cymography method. **RESULTS.** Was proven that the proteolysis ferments of urine MMP-2 and MMP-9 are high sensitive characteristics of the presence of urinary bladder cancer, and their concentration depends on the depth of the invasion and differentiation stage of the tumor and shows it's prognosis on the diseases flow. **CONCLUSION.** For the diagnostics and noninvasive determination of the depth of the invasion and the stage of the differentiation of the urinary bladder cancer it is reasonable to determine the levels of MMP-2 and MMP-9 in the urine by cymography method.

Key words: urinary bladder cancer, prognosis, matrix-metalloproteas.

ВВЕДЕНИЕ

Рак мочевого пузыря (РМП) является одним из наиболее часто встречающихся новообразований и по данным Всемирной Организации Здравоохранения составляет 70% от всех опухолей мочевой системы [1]. В России в 1995 – 2005 гг. заболеваемость РМП увеличилась на 58,6% – с 5,76 до 9,14 на 100 000 населения [2]. Это заболевание наносит обществу значительный социально-экономический ущерб [3], поэтому своевременное распознавание и правильно выбранное лечение РМП с учетом определения прогноза заболевания явля-

ются актуальной проблемой современной медицины.

Для разработки новых высокоэффективных методов определения прогноза РМП необходимо более детальное и глубокое изучение биологических особенностей этого вида опухоли. Одним из новых методов оценки агрессивности опухолей в настоящее время является определение эндогенных ферментов протеолиза. В последние годы доказано, что в процессе инвазии злокачественных новообразований происходит протеолитическое разрушение базальной мембраны слизистой оболочки мочевого пузыря опухолевыми клетками [4]. К эндогенным ферментам, участвующим в этом процессе, относят матрикс-металлопротеазы

Данильченко Д.И. 197022, С.-Петербург, ул. Л.Толстого, 17. Кафедра урологии СПб ГМУ им. акад. И.П.Павлова. Тел.: (812) – 234-66-57; E-mail: ad330@mail.ru

(ММП), повышение концентрации которых связано с инвазией и метастазированием опухоли [5,6,7]. Однако опубликованные данные о прогностическом значении ММП у больных РМП являются противоречивыми.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния активности опухолевого процесса (глубины инвазии и степени дифференцировки опухоли) на уровень матрикс-металлопротеаз 2 и 9 в моче у больных раком мочевого пузыря.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Настоящая работа основана на обследовании 71 больного раком мочевого пузыря, среди которых было 36 женщин и 35 мужчин в возрасте от 38 до 83 лет. Средний возраст пациентов составил $63,2 \pm 5,5$ лет. Больные предъявляли жалобы на учащенное (68 чел.) и болезненное (61 чел.) мочеиспускание и тупые боли над лобком (40 чел.) У 28 (39,4%) пациентов был диагностирован рак мочевого пузыря в стадии T_a (папиллярная неинвазивная карцинома), у 15 (21,1%) – в стадии T_1 (опухоль распространялась на субэпителиальную соединительную ткань), у 18 (25,3%) – в стадии T_2 (опухоль распространялась на мышцы) и у 10 (14,1%) – в стадиях T_3 и T_4 (опухоль распространялась на околопузырные ткани и органы).

По степени гистопатологической градации, т.е. дифференцировки опухоли, у 11 (15,5%) больных была установлена высокая степень дифференцировки (G-1), у 27 (38,0%) – умеренная степень дифференцировки (G-2), а у 33 (46,5%) – низкая степень дифференцировки (G-3). У всех больных патоморфологический диагноз был определен или после трансуретральной резекции опухоли мочевого пузыря с выполнением биопсии или после цистэктомии.

В группу сравнения были включены 14 больных (6 женщин и 8 мужчин) с другим заболеванием мочевого пузыря – хроническим циститом в стадии обострения. Контрольную группу из 45 человек (4 женщины и 41 мужчина) составили пациенты, у которых не были диагностированы болезни мочевого пузыря, а они лечились в клинике урологии по поводу варикоцеле, водянки оболочек яичка, фимоза, мочекаменной болезни, но без наличия обструкции или инфекции мочевыводящих путей.

У всех пациентов в моче определяли концентрацию ММП-2 и ММП-9 по стандартной методике, описанной в работах S.Zucker и соавт. [8]. Для этого утреннюю порцию мочи центрифугировали в течение 10 мин. при температуре $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ со скоростью 3000 об./мин. Надосадочную жидкость за-

мораживали при температуре -80°C до момента исследования. Концентрацию ММП-2 и ММП-9 в моче определяли при помощи цимографии, применяя при этом электрофорез в геле в течение 3 часов с 10% раствором Sodium-Dodecylsulfat-Poliacrylamid (SDP). Электрофорезом разделяли белки в зависимости от их молекулярного веса. Гель освобождали от SDP, отмывая его в течение 2 часов в буфере, а затем окрашивали его 0,2% раствором Coomassie-blau и сканировали на аппарате Scanmaker-4 (США). По оптической плотности геля судили о концентрации матрикс-металлопротеаз. В каждом образце геля для сравнения создавали калибровочную кривую со стандартным набором ММП-2 и ММП-9 с учетом их молекулярного веса (для ММП-2 – 72 кДа, для ММП-9 – 92 кДа).

Полученные относительные показания ММП сопоставляли с концентрацией креатинина в моче для устранения разницы диуреза пациентов [8]. В результате были получены абсолютные значения ММП-2 и ММП-9 мочи, необходимые для дальнейшего сравнения по группам.

Статистический анализ проводили с помощью программы Statistika-6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оказалось, что у больных раком мочевого пузыря концентрация ММП-2 и ММП-9 в моче была значительно выше, чем у больных, страдающих хроническим циститом и у лиц контрольной группы. Так, у больных раком мочевого пузыря концентрация ММП-2 в моче составила $278,7 \pm 29,6$ мкг/г креатинина, тогда как у пациентов, страдающих хроническим циститом в стадии обострения – $101,5 \pm 18,8$ мкг/г креатинина ($p < 0,01$), а у лиц контрольной группы – $83,5 \pm 5,6$ мкг/г креатинина ($p < 0,001$). Содержание ММП-9 в моче у больных раком мочевого пузыря составило $405,4 \pm 32,7$ мкг/г креатинина, тогда как у пациентов с хроническим циститом – $130,0 \pm 50,7$ мкг/г креатинина ($p < 0,01$), а у лиц контрольной группы – $92,1 \pm 7,7$ мкг/г креатинина ($p < 0,001$).

Концентрация ММП-2 и ММП-9 в моче в подгруппе больных с инвазивным раком мочевого пузыря (T_2) была выше ($887,4 \pm 41,4$ мкг/г креатинина и $1050,8 \pm 34,8$ мкг/г креатинина соответственно), чем у пациентов с поверхностным раком мочевого пузыря (T_a и T_1), у которых она составила $153,2 \pm 32,1$ мкг/г креатинина и $229,8 \pm 24,5$ мкг/г креатинина ($p < 0,001$).

При анализе уровня ММП-2 и ММП-9 в моче у больных РМП в зависимости от степени дифференцировки опухолевых клеток оказалось, что с

повышением степени злокачественности опухолевого процесса возрастает уровень исследуемых протеаз. При G-1 концентрация ММП-2 в моче составила $112,4 \pm 8,8$ мкг/г креатинина, при G-2 – $198,6 \pm 12,0$ мкг/г креатинина ($p < 0,05$), а при G-3 – $493,1 \pm 18,4$ мкг/г креатинина ($p < 0,001$). Концентрация ММП-9 у больных РМП с дифференцировкой клеток G-1 составила $232,8 \pm 12,8$ мкг/г креатинина, при G-2 $272,7 \pm 31,3$ мкг/г креатинина ($p < 0,05$), а при G-3 $554,3 \pm 28,6$ мкг/г креатинина ($p < 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Для выявления РМП и определения прогноза заболевания оценка пролиферативной активности опухоли путем определения уровня матрикс-металлопротеаз в моче является простым и перспективным методом исследования. Этот метод позволяет урологу заподозрить или исключить РМП уже на этапе предварительного амбулаторного обследования.

Преимущество определения концентрации ММП-2 и ММП-9 в моче методом цимографии по сравнению со стандартной цистоскопией и биопсией стенок мочевого пузыря состоит в том, что это исследование является абсолютно неинвазивным, но достаточно информативным не только для диагностики рака мочевого пузыря, но и для определения глубины прорастания опухоли и дифференцировки клеток опухоли. Повышение концентрации ММП-2 и ММП-9 в моче выше 500 мкг/г креатинина является сигналом о наличии у больного инвазивной стадии (T_2 и более) рака мочевого пузыря с низкой степенью дифференцировки (G-3) опухоли.

Это исследование позволяет врачу правильно планировать объем дальнейшего обследования больного, выбрать метод его лечения и более точно прогнозировать течение заболевания. Кроме того, это исследование позволяет своевременно диагностировать рецидив опухоли мочевого пузыря после проведенного лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ферменты протеолиза ММП-2 и ММП-9 мочи являются эффективными высокочувствительными показателями наличия рака мочевого пузыря, их концентрация зависит от глубины инвазии и степени дифференцировки опухоли и указывает на прогноз течения болезни.

Для диагностики и неинвазивного определения глубины инвазии и степени дифференцировки рака мочевого пузыря целесообразно методом цимографии определять концентрацию ММП-2 и ММП-9 в моче, что позволит неинвазивным способом определить стадию рака и проводить контроль после проведенного лечения за возможным рецидивированием опухоли.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Давыдов МИ, Аксель ЕМ. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2004 году. *Вестн РОНЦ им Блохина РАМН* 2006; 17(3): 52-89
2. Аполихин ОИ, Какорина ЕП, Сивков АВ и др. Состояние урологической заболеваемости в Российской Федерации по данным официальной статистики. *Урология* 2003; 3: 3-9
3. Лопаткин НА, Даренков СП, Чернышов ИВ и др. Диагностика и лечение рака мочевого пузыря. *Урология* 2004; 1: 12-17
4. Stetler – Stevenson WG, Hewitt R, Corcoran M. Matrix metalloproteinases and tumor invasion: from correlation and causality to the clinic. *Semin Cancer Biol* 1996; 7: 1147-154
5. Kanayama H, Yokota K, Kurokawa Y. Prognostic values of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression in bladder cancer. *Cancer* 1998; 82: 1359-1366
6. Forsyth PA, Wong H, Laing TD et al. Gelatinase-A (MMP-2), gelatinase-B (MMP-9) and membrane type matrix metalloproteinase-1 are involved in different aspects of the pathophysiology of different aspects of malignant gliomas. *Brit J Cancer* 1999; 79: 1828-1835
7. Sier CF, Casetta G, Verheijen JH et al. Enhanced urinary gelatinase activities (matrix metalloproteinases 2 and 9) are associated with early-stage bladder carcinoma: a comparison with clinically used tumor markers. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2333-2340
8. Zucker S, Lysik R, Zarrabi H et al. Plasma assay of gelatinase B: tissue inhibitor of metalloproteinase complexes in cancer. *Cancer* 1995; 76: 700-708

Поступила в редакцию 21.10.2008 г.

Принята в печать 10.02.2009 г.

© Е.С.Завьялова, А.С.Аль-Шукри, И.А.Корнеев, О.Д.Ягмуров, 2009
УДК 616.62-006.6-036.8:616-097

Е.С. Завьялова¹, А.С. Аль-Шукри¹, И.А. Корнеев¹, О.Д. Ягмуров²

РОЛЬ АНТИГЕНОВ Ki-67, p53 и bcl-2 В ПРОГНОЗИРОВАНИИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ ПЕРЕХОДНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

E.S. Zavialova, A.S. Al-Shukri, I.A. Korneev, O.D. Yagmurov

THE ROLE OF Ki-67, p53 and bcl-2 ANTIGENS IN THE PROGNOSIS OF CLINICAL COURSE OF TRANSITIONAL CELLULAR CANCER OF THE URINARY BLADDER

Кафедры ¹урологии и ²патологической анатомии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Целью настоящего исследования явилось изучение экспрессии антигенов Ki-67, p53 и bcl-2 и их связи с клинико-морфологическими характеристиками опухоли, а также клиническим течением болезни. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Ретроспективно изучены материалы клинического обследования 16 больных переходно-клеточным раком мочевого пузыря. Были проведены иммуногистохимические реакции с антителами к Ki-67, p53 и bcl-2. Полученные данные обзорного гистологического и иммуногистохимического исследования сопоставлялись с результатами диспансерного наблюдения за пациентами в течение 5 лет. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Высокой степени пролиферативной активности переходно-клеточных карцином соответствовала меньшая степень дифференцировки опухолевой ткани ($r=0,70$; $p=0,003$) и меньшая продолжительность безрецидивного периода ($r=0,67$; $p=0,078$). Для карцином с большим числом p53-позитивных ядер была характерна меньшая степень дифференцировки ($r=0,47$; $p=0,067$), быстрое наступление рецидива ($r=72$; $p=0,068$) и меньшая продолжительность жизни больных ($r=0,72$; $p=0,087$). Активность апоптоза увеличивалась с понижением степени дифференцировки опухоли ($r=0,67$; $p=0,04$). Выявлена положительная корреляционная связь между пролиферацией опухолевых клеток и нарушением в них апоптоза ($r=0,67$; $p=0,04$). **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** В результате проведенного исследования нами было установлено, что исследуемые антигены обладают прогностической ценностью, так как тесно связаны со степенью дифференцировки переходно-клеточных карцином. Кроме того, гиперэкспрессия белка p53 была взаимосвязана со скоростью рецидивирования опухолей и выживаемостью больных.

Ключевые слова: переходно-клеточный рак, прогноз, Ki-67, p53, bcl-2.

ABSTRACT

THE AIM. The goal of present investigation was to study the expression of Ki-67, p53 and bcl-2 antigens and their connection with clinico-morphological characteristics of the tumor, and also the clinical flow of the disease. **PATIENTS AND METHODS.** The materials of the clinical investigation of 16 patients with transitional cellular carcinoma of the urinary bladder was retrospectively studied. Immunohistochemical reaction with Ki-67, p53 and bcl-2 antibodies took place. The received histological and immunohistochemical data was co-analyzed with the follow-up results after the patients during 5 years. **RESULTS.** The high level of proliferative activity of the transitional cell carcinoma correlated with the lower differentiation stage of the tumor tissue ($r=0,70$; $p=0,003$) and shorter period of recurrence absence ($r=0,67$; $p=0,078$). For the carcinomas with the higher number of p-53 positive nucleae was more characteristic the lower stage of the differentiation ($r=0,47$; $p=0,067$), faster recurrence ($r=72$; $p=0,068$) and lower life duration of the patients ($r=0,72$; $p=0,087$). The apoptosis activity increased with the decrease of the differentiation stage of the tumor ($r=0,67$; $p=0,04$). Was discovered a positive correlation between tumor cell proliferation and apoptosis failure ($r=0,67$; $p=0,04$). **CONCLUSION.** As a result of the conducted experiment we stated that investigated antigens have a prognostic value, as a result of their close connection with the stage differentiation of the transitional cell carcinoma. Besides that the hyper expression of p53 protein was interconnected with the speed of the tumor recurrence and survival of the patients.

Key words: transitional cell tumor, prognosis, Ki-67, p53, bcl-2.

ВВЕДЕНИЕ

Рак мочевого пузыря относится к распространенным злокачественным новообразованиям и составляет 2-5% от всех злокачественных опухолей

человека. В структуре онкологической заболеваемости он занимает 11-е место и достигает 10-15 случаев на 100 000 человек в год [1]. Выбор метода лечения больных переходно-клеточным раком мочевого пузыря в настоящее время базируется на традиционных прогностических факторах: глубине инвазии и степени дифференцировки. Извест-

Завьялова Е.С. 197022, С.-Петербург, ул. Л.Толстого, 17. Кафедра урологии СПб ГМУ им. акад. И.П.Павлова. E-mail: dr.zavialova@mail.ru

тно, что результаты лечения больных, принадлежащих к одной и той же классификационной подгруппе, существенно различаются, поэтому очевидно, что эти признаки не могут полноценно предсказать дальнейшее течение болезни. Поэтому исследователями ведется поиск клинико-морфологического критерия, который позволил бы получить дополнительную прогностическую информацию и точнее спрогнозировать биологическое поведение карцином. Несмотря на эти усилия, до сих пор вопрос остается открытым.

В настоящее время развитие рака мочевого пузыря рассматривается учеными с позиции концепции «опухолевого поля», согласно которой злокачественная трансформация эпителия является проявлением нестабильности эпителия. В результате генетической нестабильности возможно появление множественных новообразований и их частое рецидивирование. Типичными для рака мочевого пузыря изменениями генома являются мутации генов, отвечающих за пролиферативную активность, запуск апоптоза, контроль клеточного цикла. Наиболее изученными и часто применяемыми маркерами рака мочевого пузыря являются индекс пролиферации Ki-67, белки p53 и bcl-2, однако, до сих пор однозначно сделать вывод об их ценности нельзя.

Роль протеина Ki-67 как индикатора пролиферативной активности клеток была изучена для различных локализаций рака, в том числе в отношении рака мочевого пузыря. Учеными, исследовавшими активность Ki-67 в переходно-клеточных карциномах, установлено, что экспрессия этого белка ассоциирована со степенью дифференцировки опухоли, ее инвазией в кровеносные и лимфатические сосуды и глубиной инфильтрации новообразований [2]. Независимая ценность этого маркера для прогнозирования рецидивирования, прогрессии, выживаемости и эффективности иммунотерапии поверхностных переходно-клеточных карцином мочевого пузыря подтверждается многими исследователями [3, 4, 5, 6]. Несмотря на это, некоторые ученые не обнаружили связи Ki-67 с прогнозом заболевания [7].

Мутации гена p53 – самые часто встречающиеся в опухолях человека [8]. Ген кодирует ядерный фосфопротеин, участвующий в регуляции клеточного цикла. Функция этого белка состоит в остановке транскрипции в случае повреждения ДНК для ее репарации, либо индуцирует апоптоз при невозможности ее починки [9]. Прогностическую ценность гиперэкспрессии гена p53 изучало значительное количество авторов [10, 11]. Ученые обнаружили, что гиперэкспрессия p53 связана с повы-

шенным риском рецидивирования рака мочевого пузыря и низкой выживаемостью больных, что позволило им рекомендовать этот метод для прогнозирования течения рака мочевого пузыря. Более того, в отношении этих показателей показана независимая прогностическая ценность p53. Другие авторы отметили связь с показателями выживаемости, но не обнаружили данные в пользу независимой ценности этого маркера [12, 13]. В связи с этим возникает необходимость проведения исследования, посвященного изучению прогностических возможностей этого метода.

Протеин bcl-2 является антиапоптотическим белком. РК Lirponen и соавт. опубликовали данные обследования 158 больных переходно-клеточным раком мочевого пузыря, по результатам которых была выявлена связь между экспрессией bcl-2 и глубиной инвазии и степенью дифференцировки карцином, митотическим индексом, площадью ядер, а также наличием отдаленных метастазов и скоростью наступления рецидива [14]. Другие авторы отмечали связь гиперэкспрессии bcl-2 с неблагоприятным прогнозом заболевания [15, 16]. Тем не менее, до настоящего времени роль bcl-2 в злокачественном потенциале рака мочевого пузыря до конца не изучена и требует продолжения исследований.

Несмотря на большое количество исследований, подтверждающих прогностическую ценность этих биомаркеров, некоторое количество публикаций отрицают возможность определения исхода заболевания с их помощью. Учитывая невозможность точного определения исхода заболевания, используя отдельные показатели, перспективным направлением поисков нам представляется совокупная оценка нескольких, наиболее хорошо изученных характеристик новообразований. Нами было проведено комплексное исследование аспектов, с различных сторон характеризующих опухоль: процесс: пролиферацию клеток карцином, нарушение апоптоза, нарушение контроля клеточного цикла. Подобных работ, посвященных переходно-клеточному раку мочевого пузыря, в отечественной литературе мы не обнаружили.

Целью настоящего исследования явилось изучение экспрессии антигенов Ki-67, p53 и bcl-2 и их связи с клинико-морфологическими характеристиками опухоли, а также клиническим течением болезни.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Ретроспективно изучены материалы клинического обследования 16 больных переходно-клеточным раком мочевого пузыря, проходивших лечение в урологических клиниках СПбГМУ им. акад.

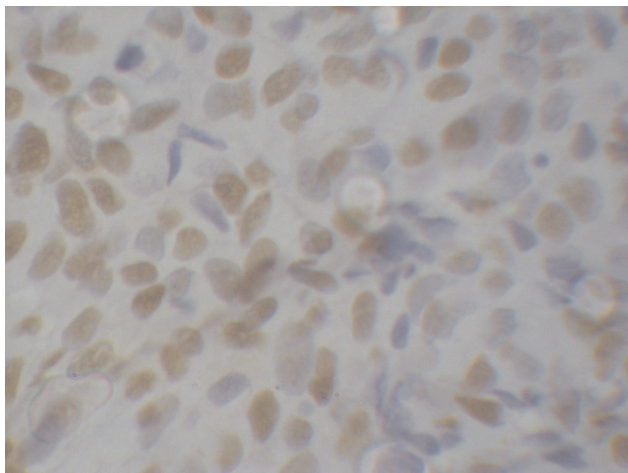


Рис. 1. Микрофотография. Окраска гематоксилин-эозин и иммуногистохимическая окраска к белку Ki-67, увеличение $\times 600$. Переходно-клеточный рак мочевого пузыря, контрастированы ядра клеток.

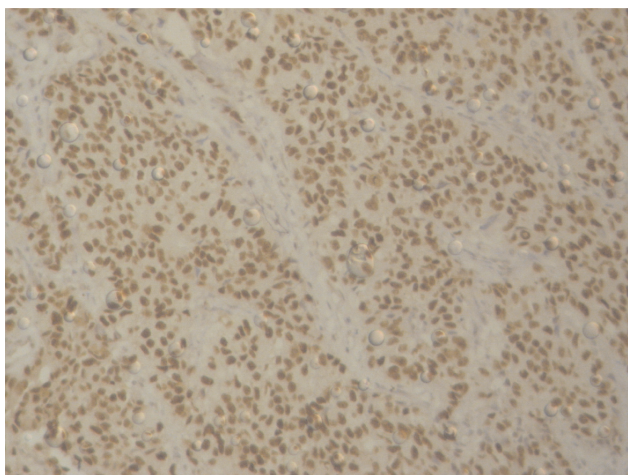


Рис. 2. Микрофотография. Окраска гематоксилин-эозин и иммуногистохимическая окраска к белку p53, увеличение $\times 400$. Переходно-клеточный рак мочевого пузыря, контрастированы ядра клеток.

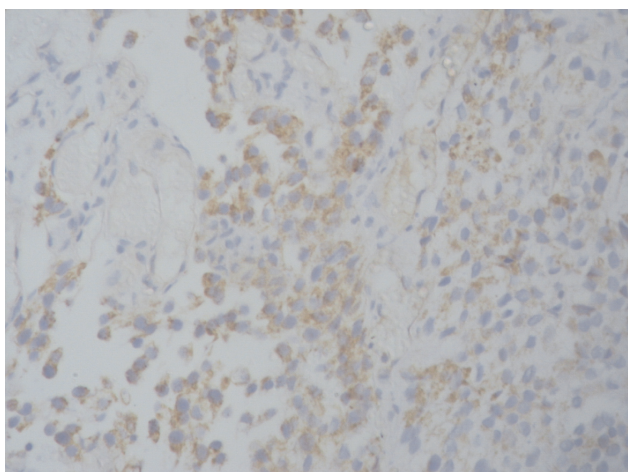


Рис. 3. Микрофотография. Окраска гематоксилин-эозин и иммуногистохимическая окраска к белку bcl-2, увеличение $\times 400$. Переходно-клеточный рак мочевого пузыря, контрастирована цитоплазма клеток.

И.П. Павлова и ВМА им. С.М. Кирова и находившихся на диспансерном наблюдении. 10 (62%) пациентам была произведена трансуретральная резекция, 3 (19%) выполнена радикальная цистэктомия, у 3 (19%) больных опухоль мочевого пузыря была неоперабельной. Соотношение мужчин и женщин было 15:1, средний возраст пациентов составил 66 ± 9 лет. Минимальный размер опухоли был 1 см, максимальный – 8 см, средние размеры составили $2,8 \pm 2,6$ см. У половины больных карциномы были одиночные, другая половина имела множественные опухоли. У 3 (19%) пациентов оперативные вмешательства были выполнены по поводу рецидивных карцином, у 13 (81%) опухоли были первичными.

Из операционного биопсийного материала приготавливались гистологические срезы толщиной 5 – 7 мкм, которые окрашивались гематоксилином и эозином. Затем при увеличении $\times 600$ проводилось обзорное гистологическое исследование изучаемых структур с выявлением глубины инвазии и степени дифференцировки рака. При обзорном гистологическом исследовании препаратов было выявлено, что глубина инвазии рака Tis, Ta, T1, T2, T3, T4 и TX была выявлена в 1 (6%), 2 (13%), 1 (6%), 6 (36%), 2 (13%), 2 (13%), 2 (13%) случаях соответственно, а степень дифференцировки G1, G2 и G3 – в 6 (36%), 6 (36%) и 4 (28%) соответственно.

Иммуногистохимические реакции проводились с антителами к Ki-67, p53 и bcl-2 фирмы «Дако», Дания. Подсчет позитивных клеток производился полуколичественным методом при увеличении $\times 600$. Положительным результатом считалось интенсивно-коричневое окрашивание ядер в случае Ki-67 и p53 и коричневое окрашивание цитоплазмы и/или ядерной оболочки в случае bcl-2.

Полученные данные обзорного гистологического и иммуногистохимического исследования сопоставлялись с результатами диспансерного наблюдения за пациентами в течение 5 лет. Средний срок наблюдения составил 51 ± 32 месяца. За время наблюдения рецидивы были выявлены у 7 (44%) больных, средний срок безрецидивного промежутка составил 7 ± 6 месяцев, 7 (44%) пациентов умерло вследствие опухолевой прогрессии и рецидивирования.

При статистической обработке результатов учитывались параметры распределения. Анализировались корреляционные связи между признаками с использованием коэффициента корреляции Пирсона, непараметрического rs-теста, Н-критерия Краскала-Уоллеса и однофакторного дисперсионного анализа, а сравнение средних величин – с помощью t-критерия Стьюдента и непараметрического U-теста Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Зависимость между глубиной инвазии рака и степенью экспрессии Ki-67, p53 и bcl-2 в исследованных образцах удаленной опухолевой ткани оказалась ниже порога достоверности ($p > 0,2$).

Высокой степени пролиферативной активности переходно-клеточных карцином соответствовала меньшая степень дифференцировки опухолевой ткани ($r=0,70$; $p=0,003$; $rs=0,69$; $p=0,003$; $F=6,86$; $p=0,009$) и меньшая продолжительность безрецидивного периода ($r=0,67$; $p=0,078$; рис. 1). Среди подгрупп с различной степенью дифференцировки экспрессия Ki-67 была менее значительной в образцах ткани с G1 при сравнении с G2 и G3 ($t=2,53$; $p=0,030$; $U=6,0$; $p=0,050$; $t=6,93$; $p<0,0001$; $U=6,0$; $p=0,011$ соответственно).

Для карцином с большим числом p53-позитивных ядер была характерна меньшая степень дифференцировки ($r=0,47$; $p=0,067$; $rs=0,51$; $p=0,042$), быстрое наступление рецидива ($r=0,72$; $p=0,068$) и меньшая продолжительность жизни больных ($r=0,72$; $p=0,087$; рис. 2). Низкодифференцированные опухоли демонстрировали большее количество клеток с потерей контроля над клеточным циклом по сравнению с высокодифференцированными новообразованиями ($U=2,0$; $p=0,033$).

Активность апоптоза увеличивалась с понижением степени дифференцировки опухоли ($r=0,67$; $p=0,04$; $rs=0,70$; $p=0,003$; $F=9,69$; $p=0,03$), по сравнению с высоко- и умереннодифференцированными карциномами опухоли со степенью дифференцировки G3 имели более высокую степень экспрессии bcl-2 ($t=2,96$; $p=0,018$; $U=2,00$; $p=0,033$; $t=2,94$; $p=0,019$; $U=0,00$; $p=0,011$ соответственно; рис. 3, 4).

При анализе результатов исследования обнаружена взаимосвязь некоторых опухолевых антигенов. Так, выявлена положительная корреляционная связь между пролиферацией опухолевых клеток и нарушением в них апоптоза: экспрессия Ki-67

и bcl-2 была взаимосвязана ($r=0,67$; $p=0,04$; $rs=0,68$; $p=0,003$). Также наблюдалась положительная тенденция во взаимоотношениях антигенов Ki-67 и p53 ($r=0,44$; $p=0,086$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время благодаря успехам молекулярной биологии, генетики и иммунологии стали возможны исследования биологических свойств опухолей и механизмов канцерогенеза. За последние два десятилетия было предложено большое количество молекулярных маркеров, потенциально обладающих прогностической ценностью в отношении выживаемости больных, вероятности рецидива опухоли, развития метастазов и т. д. Однако ни один из них широко не применяется на практике для прогнозирования течения рака мочевого пузыря вне рамок научных исследований. Многие ученые предлагают комбинировать несколько биомаркеров для более точного предсказания биологического поведения опухоли. В частности, в качестве эффективного сочетания было предложено подсчитывать комбинацию p53 и Ki-67, что позволило повысить точность прогноза заболевания [17]. По результатам проведенного исследования нами была выявлена связь между экспрессией антигенов Ki-67 и bcl-2, а также между белками Ki-67 и p53. Эти данные отражают многогранность происходящих в опухолевой ткани анапластических изменений.

В нашем исследовании было установлено, что экспрессия маркеров Ki-67 и bcl-2 тесно связана со степенью дифференцировки опухоли, тогда как антиген p53 оказался менее чувствительным в этом отношении. Также при сравнении между подгруппами по степени дифференцировки наблюдались достоверные различия в значениях Ki-67 между G1 и G2, bcl-2 – между G2 и G3, и все три показателя были эффективны при определении различий между высокодифференцированными и низкодифференцированными опухолями. При анализе прогностических возможностей Ki-67, p53 и bcl-2 была выявлена связь этих показателей с выживаемостью больных, а также скоростью рецидивирования карцином.

Таким образом, хотя самостоятельной прогностической ценности для исследуемых маркеров установлено не было, они дополнительно характеризуют злокачественный потенциал карцином мочевого пузыря, так как тесно связаны со степенью дифференцировки новообразований. Кроме того, гиперэкспрессия изученных биомаркеров позволяет количественно оценить степень злокачественности опухоли, а комбинация нескольких ан-

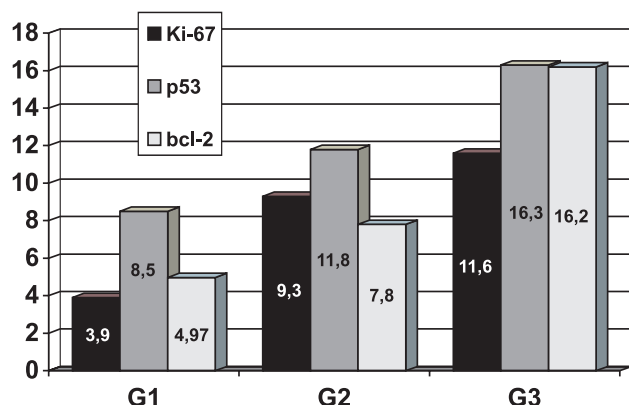


Рис. 4. Изменение индекса пролиферации Ki-67, экспрессии белков p53 и bcl-2 в зависимости от степени дифференцировки новообразований.

тигенов может повысить степень надежности результатов.

Одним из наиболее дискуссионных вопросов, касающихся рака мочевого пузыря, остается проблема определения степени дифференцировки переходно-клеточных опухолей мочевого пузыря. За последние 10 лет Европейская Ассоциация Урологов трижды меняла свои рекомендации по определению принадлежности карцином к той или иной гистологической группе. В настоящий момент принято деление переходно-клеточных опухолей мочевого пузыря на папиллярные новообразования с низким злокачественным потенциалом, высокодифференцированные и низкодифференцированные папиллярные карциномы уротелия. Однако, несмотря на это, единого мнения относительно используемой классификации у урологов нет. Причиной, по которой происходят изменения классификационных групп переходно-клеточных карцином, является вариабельность результатов вследствие субъективной оценки гистологом степени дифференцировки карцином. Разрешение этой проблемы – в количественных методах оценки степени анаплазии опухолевой ткани и стандартизации методик, реактивов и подходов к интерпретации результатов. Учитывая тесную взаимосвязь степени дифференцировки и гиперэкспрессии Ki-67, bcl-2 и менее выраженную зависимость с p53, можно сделать вывод, что эти показатели могли бы стать одним из критериев, которые позволили бы точнее определить гистологическую градацию новообразований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования нами было установлено, что антигены обладают прогностической ценностью, так как тесно связаны со степенью дифференцировки переходно-клеточных карцином. Кроме того, гиперэкспрессия белка p53 была взаимосвязана со скоростью рецидивирования опухолей и выживаемостью больных.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of major cancers in 1985. *Int J Cancer* 1993;54:594-606
2. Margulis V, Shariat SF, Ashfaq R, Sagalowsky AI, Lotan Y. Ki-67 is an independent predictor of bladder cancer outcome

in patients treated with radical cystectomy for organ-confined disease. *Clin Cancer Res* 2006;12:7369-7373

3. Lebre T, Becette V, Herve JM. Prognostic value of MIB-1 antibody labeling index to predict response to Bacillus Calmette-Guerin therapy in a high-risk selected population of patients with stage T1 grade G3 bladder cancer. *Eur Urol* 2000;37:654-659
4. Pich A, Chiusa L, Formiconi A. Proliferative activity is the most significant predictor of recurrence in noninvasive papillary urothelial neoplasms of low malignant potential and grade 1 papillary carcinomas of the bladder. *Cancer* 2002;95:784-790
5. Santos L, Costa C, Pereira S, Koch M, Amaro T, Cardoso F, Guimaraes T, Bento MJ, Lobo F, Pinto S, Lopez C. Neovascularisation is a prognostic factor of early recurrence in T1/G2 urothelial bladder tumor. *Ann Oncol* 2003;14(9):1419-1424
6. Quintero A, Alvarez-Kindelan J, Luque RJ. Ki-67 MIB1 labeling index and the prognosis of primary TaT1 urothelial cell carcinoma of the bladder. *J Clin Pathol* 2006;59:83-88
7. Zlotta AR, Noel JC, Fayt I, Drowart, Van Vooren JP, Huygen K, Simon J, Schulman CC. Correlation and prognostic significance of p53, p21WAF1/CIP1 and Ki-67 expression in patients with superficial bladder tumors treated with bacillus Calmette-Guerin intravesical therapy. *J Urol* 1999;161(3):792-798
8. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. P53 mutations in human cancers. *Science* 1991;253:49
9. Lane DP. Cancer. P53, guardian of the genome. *Nature* 1992;358:15
10. Kuczyk MA, Bokemeyer C, Serth J, Hervatin C, Oelke M, Hofner K, Tan HK, Jonas U. P53 overexpression as a prognostic factor for advanced stage bladder cancer. *Eur J Cancer* 1995;31A(13-14):2243-2247
11. Rodriguez-Alonso A, Pita-Fernandez S, Gonzalez-Carrero J, Nogueira-March JL. P53 and Ki-67 expression as prognostic factors for cancer-related survival in stage T1 transitional cell bladder carcinoma. *Eur Urol* 2002;41(2):182-8; discussion 188-189
12. Lipponen PK. Overexpression of p53 nuclear oncoprotein in transitional cell bladder cancer and its prognostic value. *Int J Cancer* 1993;53(3):365-370
13. Shiina H, Igawa M, Nagami H, Yagi H, Urakami S, Yoneda T, Shirakawa H, Ishibe T, Kawanishi M. Immunohistochemical analysis of proliferating cell nuclear antigen, p53 protein and nm23 protein, and nuclear DNA content in transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer* 1996; 78(8):1762-1774
14. Lipponen PK, Aaltomaa S, Eskelinen M. Expression of the apoptosis suppressing bcl-2 protein in transitional cell bladder tumors. *Histopathology* 1996;28920:135-140
15. Ong F, Moonen LM, Gallee MP, ten Bosch C, Zerp SF, Hart AA, Barterlink H, Verheij M. Prognostic factors in transitional cell cancer of the bladder: an emerging role for bcl-2 and p53. *Radiother Oncol* 2001;61(2):169-175
16. Atug F, Turkeri L, Ozyurek M, Akdas A. Bcl-2 and p53 overexpression as risk factors in transitional cell carcinoma of the bladder. *Int Urol Nephrol* 1998; 30(4):455-461
17. Bol MGW, Baak JPA, van Diermen B, Buhr-Wildhagen S, Janssen EAM, Kjellevoid KH, Kruse AJ, Mestad O, OGREID P. Proliferation markers and DNA content analysis in urinary bladder TaT1 urothelial cell carcinomas: identification of subgroups with low and high stage progression risks. *J Clin Pathol* 2003; 56(6):447-452

Поступила в редакцию 12.11.2008 г.

Принята в печать 10.02.2009 г.

© С.Танчева, К.Ненов, 2009
УДК 616.61-002.3-036.12:616.61-003.7

С. Танчева^{1,2}, К. Ненов^{1,2}

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КОНКРЕМЕНТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ КАЛЬКУЛЕЗНОМ ПИЕЛОНЕФРИТЕ

S. Tancheva, K. Nenov

THE CHEMICAL COMPONENTS OF THE CONCREMENTS IN CHRONIC CALCULOUS PYELONEPHRITIS

¹Клиническая лаборатория, ²отделение гемодиализа больницы «Св. Марина» медицинского университета «Проф. д-р Параскев Стоянов», г. Варна, Болгария

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Нефролитиаз – хроническое заболевание, характеризующееся наличием конкрементов в ткани или полостях (чашечки, лоханки) почек. Образование камней является следствием сложных нарушений обмена веществ. Наиболее распространены твердые кристаллообразные камни, которые составлены из органических и неорганических солей – уратов, оксалатов, фосфатов, карбонатов, цистина, ксантина и др. Нефролитиаз очень часто сопровождается воспалением почечной ткани и чашечно-лоханочной системы почек. Поэтому мы сочли целесообразным изучить химический состав конкрементов при хроническом калькулезном пиелонефрите. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Исследованы 584 пациента, проживающих в Варненской области (Болгария), которые прошли обследование в больнице «Св. Марина» медицинского университета «Проф. д-р Параскев Стоянов» в течение шести лет с основным или сопутствующим диагнозом «калькулезный пиелонефрит». Химический состав конкрементов определен с помощью теста «Urinary calculi analysis», Merk, США. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Чисто оксалатные камни были выявлены в 39 случаях, чисто фосфатные – в 34-х. Комбинированные конкременты наблюдались у 443 больных. При этом камни, состоящие из оксалата кальция с примесью фосфата наблюдались у 175 пациентов, оксалата кальция с примесью урата – у 152, оксалата кальция с примесью карбоната – 94. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Установление химического состава почечных конкрементов актуально в контексте современных тенденций превентивной медицины.

Ключевые слова: калькулезный пиелонефрит, почечные конкременты, химический состав

ABSTRACT

THE AIM. Nephrolithiasis – is a chronic disease, which is characterized by the presence of concretions in the tissues or cameras of the kidneys. The formation of the calculi is a result of complex difficult substance exchange disorders. The most common are solid crystal like calculi, which are composed of organic and non-organic salts – urates, oxalates, phosphates, carbonates, cystin, ksantin, etc. Nephrolithiasis is often concomitant with inflammation of renal tissue and system. So we thought reasonable to study the chemical components of the concretions in chronic calculous nephrolithiasis. **PATIENTS AND METHODS.** 584 patients, living in Varna area (Bulgaria), with examination at the St. Martin Hospital of the Medical University of Prof. Paraskev Stoyanov during the six years with the main or concomitant diagnosis of calculous pyelonephritis were investigated. The chemical components of the concretions were defined with the use of the «Urinary calculi analysis», Merk USA test. **RESULTS.** Pure oxalate calculi were discovered in 39 cases, pure phosphate in 34 cases. The combine concretions were noted in 443 patents. With that the calculi, which consisted of calcium oxalate with the phosphate mixture were noted in 175 patients, calcium oxalate with the urate mixture in 152 and calcium oxalate with carbonate mixture in 94 patients. **CONCLUSION.** The determination of the chemical compounds of the renal calculi is very important in the context of modern tendencies of preventive medicine.

Key words: calculous pyelonephritis, renal calculi, chemical compounds.

ВВЕДЕНИЕ

Почечнокаменная болезнь известна еще с глубокой древности. Существуют эндемические области, где она наблюдается особенно часто. К ним относится Болгария. Нефролитиаз охватывает от 0,1 до 6% всего населения страны [1]. Он чаще встречается у мужчин в возрасте старше 30 лет.

Оседание кристаллов и формирование камней в мочевых путях является следствием изменений состава мочи под действием разных литогенных факторов [2]. Нефролитиаз чаще развивается при комбинации нескольких таких факторов.

Камни мочевых путей состоят из органического матрикса и кристаллической структуры, химический состав которой определяет вид конкремента [3]. Их размеры и форма различаются и в значительной степени зависят от химического состава [4]. Небольшие конкременты более опасны,

Танчева С., 052 302851-1224, Болгария, Варна, отделение гемодиализа больницы «Св. Марина» медицинского университета «Проф. д-р Параскев Стоянов», Бул.Хр.Смирненски 1; E-mail: Tanq_Tancheva@abv.bg

поскольку часто вызывают обструкцию мочеточников и повреждение слизистой оболочки лоханки, что повышает риск инфицирования [5,6].

Почечнокаменная болезнь часто сопровождается разными осложнениями, в частности, воспалением почечной лоханки, которое бывает острым (серозное, катаральное, гнойное, некротическое) или хроническим. Воспаленные процессы в чашечно-лоханочной системе и паренхиме почек часто комбинируются.

Патогенез образования камней состоит из двух основных факторов: анатомические аномалии, способствующие развитию локальной воспалительной реакции и биохимические нарушения в процессе образования мочи.

Калькулезный пиелонефрит может быть острым (гнойным) или хроническим, приводящим, в конечном итоге, к сморщиванию почки (нефроцироз). Причиной воспаления чаще всего служат энтеробактерии, как правило, *Echerihia coli*. Полная или частичная обструкция лоханки или мочеточника приводит к развитию гидронефроза. Возможно также наличие макро- или микрогематурии.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 584 пациента, проживающих в Варненской области (Болгария), которые прошли обследование в больнице «Св. Марина» медицинского университета «Проф. д-р Параскев Стоянов» в течение шести лет с основным или сопутствующим диагнозом «калькулезный пиелонефрит». Мужчин было 304, женщин – 267. Кроме того, в группу наблюдения вошло 13 детей в возрасте до 18 лет. Только восемь исследованных камней локализовались в мочевом пузыре, тогда как остальные находились в вышележащих отделах мочевых путей.

Химический состав конкрементов был определен с помощью теста «Urinary calculi analysis», Merk, США. Оценка химического состава камня и определение концентраций его составляющих проводилось путем сопоставления с цветовой шкалой стандарта, приложенного к набору «Urinary calculi analysis».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Число пациентов с различным химическим составом мочи в зависимости от пола и возраста представлено на рис. 1.

При этом чисто оксалатные камни были выявлены в 39 случаях, чисто фосфатные – в 34-х. Комбинированные конкременты наблюдались у 443 больных. При этом камни, состоящие из оксалата кальция с примесью фосфата, наблюдались у 175 пациентов, оксалата кальция с примесью урата –

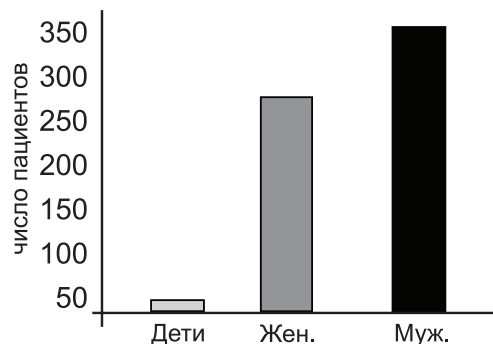


Рис. 1. Возрастно-половое распределение пациентов с калькулезным пиелонефритом, подвергнутых исследованию химического состава конкрементов, в больнице «Св. Марина» медицинского университета «Проф. д-р Параскев Стоянов» в 2001-2007 гг.

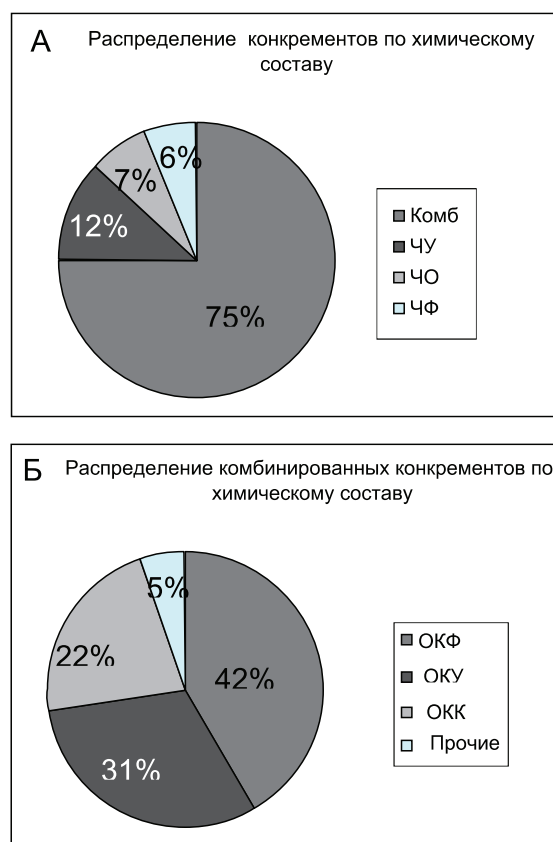


Рис. 2. Соотношение конкрементов по химическому составу. А: Комб – комбинированные, ЧУ – чисто уратные, ЧО – чисто оксалатные, ЧФ – чисто фосфатные. Б: ОКФ – оксалат кальция плюс фосфат, ОКУ – оксалат кальция плюс урат, ОКК – оксалат кальция плюс карбонат.

у 152, оксалата кальция с примесью карбоната – 94.

Процентное соотношение конкрементов по химическому составу у обследованных больных показано на рис. 2.

ОБСУЖДЕНИЕ

Большой процент комбинированных конкрементов, наверное, можно объяснить содержанием большого количества неорганических и органических составляющих в воде Варненской области Бол-

гории. К ним, в первую очередь, можно отнести различные кальциевые соли, магний-аммониевый фосфат, гидроген-фосфат кальция, а также оксалаты и прочие соединения. Использование богатой известковыми солями воды в Варненской области в сочетании с хроническими энтеритами, потреблением значительного количества алкоголя и особенностями питания, возможно, служит предпосылкой развития интерстициальных повреждений почек, бактериальной контаминации и последующего развития калькулезного пиелонефрита.

В любом случае образование конкрементов связано с множеством факторов [7]: инфицированием, стриктурами, застоем мочи, гиперпаратиреозом, длительной иммобилизацией, недостатком витамина А, употреблением значительных количеств молока, витамина D и других продуктов, которые защелачивают внутреннюю среду организма. Аскорбиновая кислота и повышение потребления оксалатов с пищей предрасполагает к гипероксалурии. Наличие в рационе значительного содержания пуринов, белков и алкоголя, а также некоторые заболевания, которые требуют проведения терапии, приводящей к усилению гибели и распада клеток, способствует гиперурикозурии [8,9]. Она не только благоприятствует образованию конкрементов в мочевых путях, но и содействует агрегации кристаллов оксалата кальция. В последнем случае чаще формируются смешанные конкременты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установление химического состава почечных конкрементов в значительной степени обеспечивает решение диагностических и прогностических задач, встающих перед врачом и пациентом, что актуально в контексте современных тенденций превентивной медицины.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Миндизова А, Димитраков Д, Ненов К, Паскалев Д. Клиника и терапия внутренних болезней. Пловдив, 2006; 117-124
2. Ahmad NM, Ahmad KM. Coriynobacterium minutissimum pyelonephritis with associated bacteraemia: a case report and review of literature. *J Infect* 2005; 51(5): 299-303
3. Ненов Д, Шипков Т. Ранняя диагностика и лечение почечных заболеваний. София, 1900; 33-47
4. Egilmez T, Tekin MI, Gonen M, Kilinc F, Goren R Ozkardes H. Efficacy and safety of a new-generation Shockwave lithotripsy machine in the treatment of single renal or ureteral stones: Experience with 2670 patients. *J Endourol* 2007; 21(1): 23-27
5. Dzeranov NK, Moskalenko SA. New approach to improving efficacy and objective assessment of the extracorporeal lithotripsy. *Urologia* 2004; (6): 6-9
6. Pertel PE, Haverstock D. Risk factors for a poor outcome after therapy for acute pyelonephritis. *BJU Int* 2006; 98(1): 141-147
7. Trapeznikova MF, Dutov W. Extracorporeal shock-wave lithotripsy in the treatment of urolithiasis of dystopic kidneys. *Urologia* 2006; (2): 3-6
8. Olszewska M. The effect of hemodialysis on some parameters of the antioxidant system in the blood of patients with chronic renal failure. *Ann Acad Med Stetin* 2004; 50(1): 41-52
9. Tasic V, Sofijanov A, Avramoski V. Nephrolithiasis in a child with acute pyelonephritis. Ceftriaxone-induced nephrolithiasis and biliary pseudolithiasis. *Pediatr Nephrol* 2005; 20 (10): 1510-1512

Поступила в редакцию 23.10.2008 г.
Принята в печать 10.02.2009 г.

© И.Г.Каюков, А.В.Смирнов, М.А.Шабунин, А.М.Есаян, А.Г.Кучер, Е.С.Рысс, А.А.Кисина, Л.А.Щербак, Ю.А.Никогосян,
Л.Н.Куколева, 2009
УДК 616.152.32

*И.Г. Каюков^{1,3}, А.В. Смирнов^{2,3}, М.А. Шабунин², А.М. Есаян¹, А.Г. Кучер²,
Е.С. Рысс², А.А. Кисина², Л.А. Щербак², Ю.А. Никогосян³, Л.Н. Куколева³*

РЕДКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ В ПРАКТИКЕ «ВЗРОСЛОГО» НЕФРОЛОГА: СОСТОЯНИЯ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ГИПОКАЛИЕМИЕЙ. СООБЩЕНИЕ II. СИНДРОМ ЛИДДЛЯ

*I.G. Kaukov, A.V. Smirnov, M.A. Shabunin, A.M. Esayan, A.G. Kucher, E.S. Riss,
A.A. Kisina, L.A. Sherbak, Yu.A. Nicogosian, L.N. Kukoleva*

RARELY DISEASES IN THE PRACTICE OF «ADULT» NEPHROLOGIST: THE STATE ASSOCIATED WITH HYPOKALIEMIA. COMMUNICATION II. LIDDLE SYNDROME

Кафедры ¹ нефрологии и диализа, ² пропедевтики внутренних болезней, ³ Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

Синдром Лиддля описан в 1963 г. По современным представлениям является тубулопатией с аутосомно-доминантным типом наследования. Он определяется мутациями генов, контролирующих экспрессию β и γ -субъединиц эпителиальных натриевых каналов (ENaC), которые преимущественно располагаются на апикальных мембранах главных клеток связующих канальцев и кортикальных собирательных трубок. Заболевание встречается редко и проявляет себя объемзависимой низкорениновой гипертензией, гипокалиемией и метаболическим алкалозом. Синдром Лиддля нередко манифестирует в детском возрасте, но может впервые выявляться у взрослых и даже пожилых людей. В лечении используется ограничение соли в рационе, заместительная терапия солями калия и калийсберегающие диуретики (амилорид, триамтерен).

Ключевые слова: синдром Лиддля, патогенез, клиника, диагностика, лечение

ABSTRACT

The Liddle syndrome was described in 1963. And according to the modern views is a tubulopathy with autosomal dominant inheritance. It is determined by the mutation of the genes, controlling the expression of β and γ -subunits of epithelial sodium channels (ENaC), which are mostly located on the apical membranes of the main cells connecting tubules and cortical collecting ducts. The disease is very rare and shows itself in a volume-dependant, low rennin hypertension, hypokaliemia, and metabolic alkalosis. The Liddle syndrome quite often manifestoes in the childhood, but can be primary noticed in adults even in elderly patients. As a treatment organic salts in the ration, potassium salt substitutive therapy and potassium saving diuretics (amilorid, triamteren) are used.

Key words: Liddle syndrome, pathogenesis, clinic, diagnostic, treatment.

В нашем предыдущем сообщении [1] были рассмотрены общие вопросы физиологии и патофизиологии калиевого гомеостаза, патогенеза, классификации и клиники гипокалиемий. В настоящем разделе работы мы предполагаем продолжить обсуждение проблемы гипокалиемических состояний, большая часть из которых с той или иной вероятностью может встретиться в практике «взрослого» нефролога. Данная лекция будет посвящена одному варианту тубулопатий, ассоциированному с артериальной гипертензией, гипокалиемией и метаболическим алкалозом – синдрому Лиддля.

Синдром Лиддля (синдром Лиддля, псевдоальдостеронизм, псевдогиперальдостеронизм, редк.: семейная артериальная гипертензия с метаболическим алкалозом [2] – наследственное заболевание с аутосомно-доминантным путем передачи, впервые описанное у представителей большой семьи в Алабаме G.W. Liddle и соавт. в 1963 г. [3].

Распространенность синдрома Лиддля неизвестна, хотя, очевидно, что встречается он очень редко. Т. Matsushita и соавт. [4] к 1998 г. насчитали в англоязычной литературе 30 описаний больных с синдромом Лиддля и 22 случая этого заболевания

Каюков И.Г. 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого 17, кафедра нефрологии и диализа СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова; тел.: (812)-3463926, факс: (812)-2349191; E-mail: kaukov@nephrolog.ru

было представлено в Японии. Анализ базы данных мировой медицинской литературы PubMed дает основания полагать, что с 1998 г. по настоящее время было опубликовано еще около полутора десятков описаний пациентов с синдромом Лиддла. В доступной русскоязычной медицинской периодике описаний синдрома Лиддла мы не встретили, хотя систематический анализ ее затруднен из-за отсутствия национальной информационной базы. Не исключено, что такие описания все-таки были. Не исключено, что распространенность синдрома Лиддла намного больше, однако многие случаи заболевания не диагностируются [5].

Этиология. Синдром Лиддла классическая наследственная болезнь, которая, как уже указывалось выше, передается по аутосомно-доминантному типу. В основе заболевания лежат мутации генов *SCNN1B* и *SCNN1G*, контролирующих, соответственно, β и γ субъединицы эпителиальных натриевых каналов (ENaC), расположенных на апикальных мембранах клеток эпителия тех отделов почечных канальцев, которые чувствительны к альдостерону. Возможно выявление синдрома Лиддла и у представителей семей, в которых ранее это заболевание не наблюдалось. В таком случае речь идет о развитии мутации *de novo* [6].

Патогенез. Молекулярную природу дефекта, приводящего к формированию клинической картины синдрома Лиддла в настоящее время можно считать достаточно хорошо установленной, по крайней мере, в основных чертах. Раскрытие этих механизмов является блестящим примером приложения достижений молекулярной биологии к клинической ситуации. Данная проблема столь интересна, что ее стоит рассмотреть подробнее. Однако для этого необходимо вернуться к более детальному обсуждению процессов ионного транспорта в дистальных отделах нефрона, основные представления о которых были кратко представлены в нашем предыдущем сообщении [1].

Амилорид-чувствительные ENaC – ионные каналы, которые экспрессируются в клетках эпителия дистального нефрона, респираторного тракта, кишечника и органов вкуса. Как уже отмечалось ранее, преобладающим местом их локализации в почках являются дистальные отделы связующих канальцев (СвК) и кортикальные собирательные трубки (КСТ). Здесь они обеспечивают один из важнейших шагов в реабсорбции натрия и жидкости. Эти процессы регулируются такими гормонами как альдостерон и вазопрессин, которые увеличивают активность данных каналов. Однако вазопрессиновый путь регуляции транспорта натрия в этих отделах нефрона, по-видимому,

не имеет существенного значения в почках человека и некоторых других млекопитающих. У них нарастание реабсорбции натрия под влиянием этого пептида является кратковременным и быстро подавляется повышением продукции PGE_2 – физиологического антагониста антидиуретического гормона [7].

Интенсивность переноса натрия определяется степенью «открытости» ENaC (P_o) и их количеством на апикальной мембране нефротелия [8].

ENaC состоят из трех белковых субъединиц: α , β и γ . Каждая из них содержит два трансмембранных домена, соединенных довольно длинной экстрацеллюлярной петлей, а N- и C-терминалы располагаются внутри клеток. Роль главной «поры» для натрия, по-видимому, играет α -субъединица, однако максимальный трансмембранный поток этого катиона достигается тогда, когда все они объединяются в единый ансамбль.

Альдостерон после взаимодействия с МР-рецептором, образования гормон-рецепторного комплекса (ГРК), проникновения его в ядро и связывания с гормон-рецепторным элементом (ГРЭ) ДНК первоначально активирует синтез определенных белков (альдостерон-индуцированные протеины – АиП). На роль одного из «ближайших» АиП в настоящее время претендует SGK (SGK1, sgk) – серин-треониновая киназа. Не исключено, что непосредственно, фосфорилируя субъединицы ENaC, SGK увеличивает их активность. Однако большую роль, по-видимому, играет способность данного фермента фосфорилировать еще ряд внутриклеточных протеинов, вовлекающихся во встраивание и «изъятие» эпителиальных натриевых каналов из клеточных мембран. Представителями таких протеинов, в частности, являются энзимы Nedd4-2 и Nedd4-1 – члены семейства E3-убиквитин лигаз (см. ниже).

Для того, чтобы понять роль этих ферментов в регуляции транспорта ионов в главных клетках КСТ, реализации эффекта альдостерона и патогенезе синдрома Лиддла следует немного подробнее остановиться на убиквитин-зависимой системе протеолиза и деградации внутриклеточных белков. Роль этой системы и ее основного компонента – убиквитина направлена на уничтожение тех протеинов, которые клетке не нужны или опасны.

Убиквитин (от лат. *ubique* – вездесущий) – белок, присутствующий практически во всех клетках живых организмов. Он состоит из 76 аминокислотных остатков, его молекулярная масса сравнительно невелика, (немногим более 8 КДа). Убиквитин очень стабилен и его участие в различных биохимических процессах не приводит к изменению структуры данного протеина [9].

Процессы синтеза белков с участием нуклеиновых кислот детально исследованы. Они протекают внутри своеобразных внутриклеточных образований – рибосом. Рибосомы, по сути, небольшие автоматизированные производства по сборке белковых молекул из аминокислот по строго заданной программе. Однако, механизм уничтожения протеинов, возникающих и работающих внутри живой клетки, долгое время был мало интересен. Хотя сейчас стало понятным, что это совершенно неправильно.

Предположим, что, число, например, натриевых каналов на клеточных мембранах стало намного больше (они, как и все трансмембранные каналы представляют собой белковые комплексы; см., в частности, выше – ENaC). Обилие данных каналов приведет к неконтролируемому поступлению натрия внутрь клетки по концентрационному градиенту (концентрация этого катиона в любой внеклеточной среде выше, чем во внутриклеточной). Вслед за натрием, по осмотическому градиенту через систему аквапоринов пойдет вода, что приведет к увеличению объема клетки или даже к ее разрыву. В реальности такого, практически никогда не происходит (развитие внутриклеточного отека, естественно, возможно, но связано с другими механизмами), в частности, и потому, что процессы синтеза и встраивания в клеточные мембраны этих каналов тесно сопряжены с их деградацией. Другими словами, число «входов» для натрия в клетку не может бесконечно возрастать, поскольку ранее образованные каналы будут разрушаться. Поэтому в норме между формированием каналов и их деградацией существует определенный баланс. Отсюда следует, что количество таких каналов может увеличиться либо за счет усиления их синтеза (или встраивания в мембрану), либо вследствие уменьшения их разрушения.

Так или иначе, в организме существует четко работающая система расщепления белков на малые фрагменты, из которых в рибосомах вновь собираются нужные ему протеины.

Процессы деградации белков протекают в специальных внутриклеточных образованиях – протеасомах и лизосомах. Лизосомальный гидролиз белков в контексте данного сообщения нас интересует меньше, хотя и его роль в деградации ENaC не исключена [8]. В тоже время на механизмах «разборки» протеинов в протеасомах необходимо остановиться подробнее.

Протеасома по современным представлениям представляет собой цилиндр, собранный из колец. Внутри нее находится канал, на внутренней поверхности которого располагаются активные центры,

непосредственно разрушающие белок. С торцов каналы протеасомы закрыты специальными крышками, которые открываются, когда белковая молекула подходит к отверстию канала. Очень важно, что разборка белка в протеасомах избирательна в том смысле, что в нее могут поступить только те белковые молекулы, которые подлежат деградации. Роль «черной метки», позволяющей протеину, подлежащему уничтожению, попасть внутрь протеасомы, как раз и выполняет убиквитин.

Убиквитин, ковалентно присоединяется к боковым остаткам лизина С-терминали субстрата (белка, который необходимо уничтожить). Данный процесс протекает в несколько этапов и контролируется системой ферментов. На первом этапе убиквитин-активирующий фермент (E1) связывает убиквитин. Этот механизм связан с затратой энергии, которая поступает за счет гидролиза АТФ. На втором этапе молекула активированного убиквитина связывается с одним из представителей убиквитин-конъюгирующих энзимов (E2) и часто, вслед за этим с убиквитин-лигазой (E3). E2 и E3 в клетках представлены в виде больших семейств, члены которых различаются по свойствам и внутриклеточной локализации. Процесс конъюгации убиквитина с субстратом, в принципе, может катализироваться как самим E2, так и E2 в комплексе с E3. Однако в регуляции состояния ENaC участие представителей семейства E3-лигаз, уже упомянутых Nedd4-2 и, по-видимому, в меньшей степени Nedd4-1, имеет решающее значение.

Чаще всего с белком, которому предстоит уничтожение, связывается не одна, а несколько молекул убиквитина, которые соединены между собой как бусины на нитке. Так или иначе, белковая молекула, меченная убиквитином, входит в протеасому, протягивается через ее центральный канал, где гидролизует до мелких фрагментов, иногда до аминокислот. Продукты гидролиза выходят из протеасомы через противоположное отверстие. Интересно, что сам убиквитин в протеасому не попадает и после уничтожения отмеченной молекулы вступает в новый цикл связывания с протеинами, подлежащими ликвидации.

С учетом сведений, приведенных выше, роль механизма образования-встраивания-деградации ENaC в реализации эффекта альдостерона и патогенезе синдрома Лиддля можно представить следующим образом. В обычных условиях Nedd4, сначала конъюгируя с активированным убиквитином, затем соединяются своей определенной областью (WW-домен) с четко ограниченной аминокислотной последовательностью на С-терминали (PPX_nY или «PY-домен») цитоплазматических

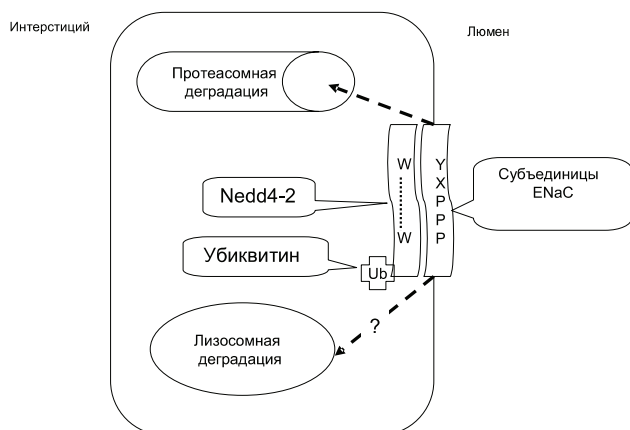


Рис. 1. Роль убиквитин-зависимого протеолиза в деградации эпителиальных натриевых каналов. Главные клетки КСТ и СвК. Объяснения в тексте.

отделов любой из трех субъединиц ENaC. При этом Nedd4, как в принципе и любые лигазы, играют роль своеобразных мостиков между одним и другим белком. Далее субъединица ENaC, таким образом, помеченная убиквитином, подвергается деградации в протеасомах (и, возможно, в лизосомах) по механизму, описанному выше (рис. 1).

Под действием альдостерона, как уже отмечалось ранее, усиливается синтез SGK, которая далее фосфорилирует ряд белков, в том числе Nedd4 (рис. 2). Фосфорилированные Nedd4 утрачивают сродство к PPPXY-последовательностям субъединиц ENaC. При этом присоединение остатков фосфорной кислоты к WW-доменам Nedd4-2 способствует тому, что на них «салятся» определенные регуляторные белки – 14-3-3 протеины (см. рис. 2). В такой ситуации конъюгация Nedd4-2 и, следовательно, убиквитина, с PPPXY-последовательностям субъединиц ENaC становится невоз-

можной (см. рис. 2). В конечном итоге теряется возможность деградации этих протеинов в протеасомах и, не исключено, в лизосомах (см. рис. 2). Из-за этого «длительность жизни» ENaC в апикальных мембранах главных клеток дистальных связующих канальцев и кортикальных собирательных трубок увеличивается и их число, в итоге, возрастает. Таким образом, **альдостерон увеличивает количество эпителиальных натриевых каналов** не столько за счет нарастания их синтеза и встраивания в мембраны (хотя такие эффекты, как и повышение активности отдельных каналов под действием данного стероида, по-видимому, также имеют место), сколько **за счет уменьшения деградации ENaC** (см. рис. 2).

Как бы ни был значим эффект альдостерона в отношении замедления деградации ENaC, еще раз подчеркнем, что действие этого гормона на транспорт ионов в главных клетках КСТ и СвК не ограничивается только им. Имеющиеся данные позволяют полагать, что изменения реабсорбции/секреции натрия и калия в эпителиальных клетках дистального отдела нефрона, чувствительных к влиянию этого минералкортикоида, определяются рядом механизмов.

Влияние альдостерона на деятельность эпителиальных клеток дистального нефрона, которые могут привести к изменениям тубулярного транспорта натрия и калия:

- Подавление убиквитин-опосредованной протеасомной деградации ENaC,
- Подавление убиквитин-опосредованной лизосомной деградации ENaC (?),
- Усиление синтеза субъединиц ENaC,
- Активация встраивания ENaC в клеточные мембраны,

- Непосредственная активация ENaC за счет SGK (в том числе путем активации SGK с участием KS-WKN1 – kidney specific with no lysine [K] kinase),
- Деубиквителирование ENaC за счет Usp2-45,
- Усиление синтеза $\alpha 1/\beta 1$ субъединиц Na, K-АТФазы,
- Непосредственная активация Na, K-АТФазы за счет CHIF (corticoid hormone-induced factor),
- Другие механизмы.

Из представленных выше возможных путей воздействия альдостерона на транспорт натрия и калия в клетках эпителия почечных канальцев, чувствительных к

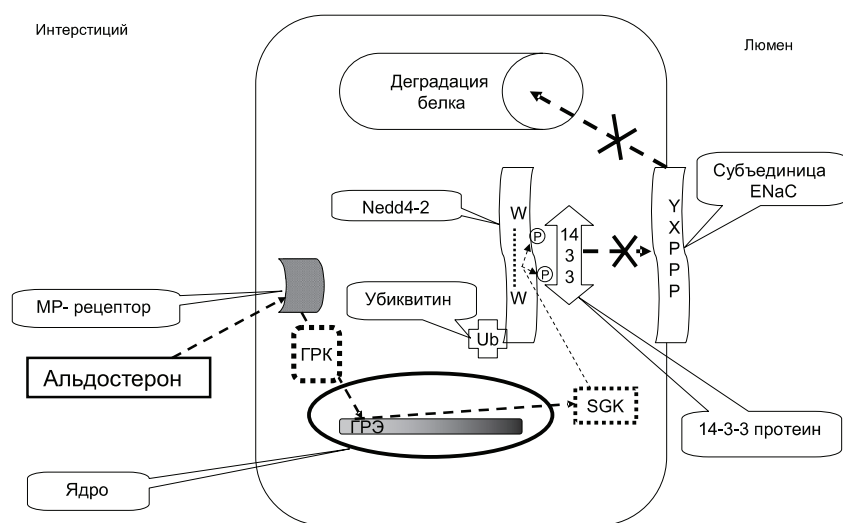


Рис. 2. Роль альдостерона в замедлении деградации эпителиальных натриевых каналов (объяснения в тексте).

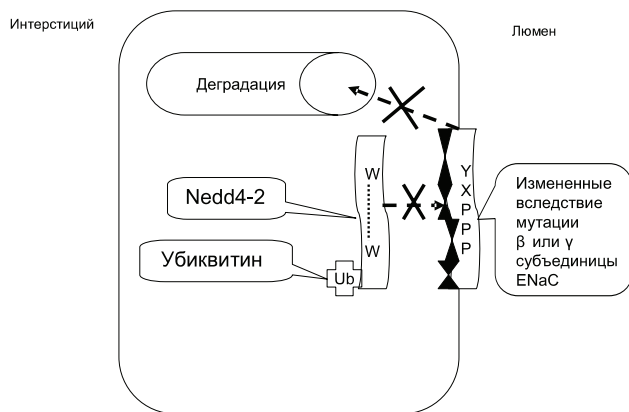


Рис. 3. Роль нарушений убиквитин-зависимого протеолиза в деградации эпителиальных натриевых каналов в патогенезе синдрома Лиддля (объяснения в тексте).

влиянию данного гормона кратко обратим внимание еще на два. Во-первых, как показали результаты ряда недавних исследований, при воздействии альдостерона не только нарушается убиквитилирование субъединиц ENaC, но и может происходить отделение убиквитина (деубиквитилирование), уже связавшегося с PY-доменами белков этого канала. Данный процесс реализуется через усиление синтеза специфической протеазы -Usp2-45. Во-вторых, имеющиеся данные позволяют полагать, что альдостерон может способствовать не только усилению синтеза, но и увеличению активности SGK за счет повышения образования KS-WKN1 (см. выше) – киназы, которая, в свою очередь, способна фосфорилировать SGK. Так или иначе, оба этих механизма «продлевают жизнь» ENaC в апикальных мембранах главных клеток КСТ и СвК со всеми вытекающими последствиями.

По современным представлениям при синдроме Лиддля происходит следующее. Различные виды мутаций *SCNN1B* и *SCNN1G*, контролирующих, соответственно, I и i субъединицы эпителиальных натриевых каналов, приводят к нарушению

структуры цитоплазматических отделов C-терминалей одного из этих протеинов, в первую очередь, PPPXY. В такой ситуации связывание этих последовательностей с WW-доменами Nedd4-2 и, соответственно, с убиквитином становится невозможным. Следовательно, нарушается и протеасомная деградация данных протеинов. В конечном итоге, число ENaC, встроенных в апикальные мембраны главных клеток СвК и КСТ, нарастает, то есть наблюдается картина, практически идентичная действию альдостерона. При этом очень важно, что функциональные свойства каналов в отношении транспорта натрия не страдают (рис. 3). Заметим, также, что нам не известны описания мутаций гена, контролирующего α-субъединицу ENaC, приводящих к формированию фенотипа синдрома Лиддля. Кроме того, роль других механизмов, потенциально способных усилить реабсорбцию натрия и, соответственно, секрецию калия в КСТ и СвК (см. выше) при синдроме Лиддля еще предстоит оценить.

Так или иначе, **основным звеном патогенеза синдрома Лиддля на субклеточно-молекулярном уровне следует считать замедление деградации ENaC, встроенных в апикальные мембраны главных клеток КСТ и дистальных отделов СвК.**

При этом увеличение числа и, возможно, активности ENaC в люменальных мембранах клеток эпителия КСТ и СвК (рис. 4) приводит к усилению тубулярной реабсорбции натрия (RNa^+ – см. рис. 4) в этих отделах нефрона. По механизму, описанному выше, повышение RNa^+ вызывает нарастание канальцевой секреции калия (EK^+ – см. рис. 4), увеличение его почечных потерь и снижение концентрации этого катиона в сыворотке крови (sK^+ – см. рис. 4). Это и становится основой развития гипокалиемии, которая является одной из наиболее характерных черт синдрома Лиддля (см. рис. 4). Важно подчеркнуть, что становление гипокалиемии происходит при этом заболевании, несмотря на обычно сниженные уровни концентрации альдостерона плазмы (КАП).

Дальнейшая цепь событий, приводящая к формированию фенотипа (клинической картины) синдрома Лиддля представляется следующей. Увеличение реабсорбции натрия в КСТ и СвК и последующее усиление обратного всасывания воды (RH_2O – см. рис. 4) в этих от-

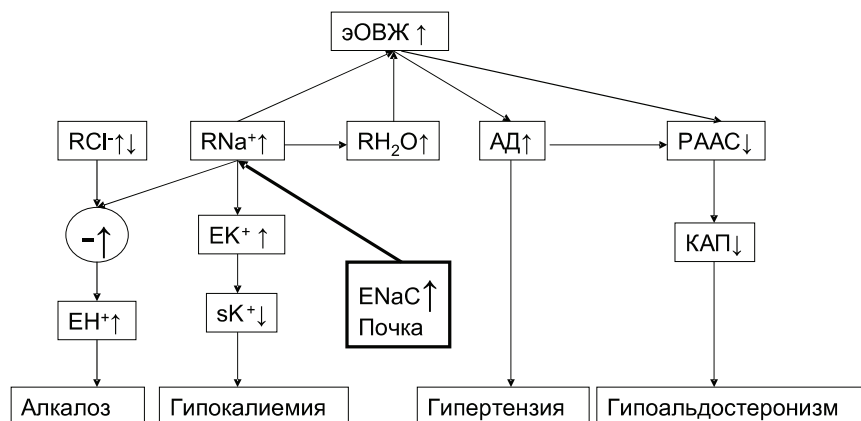


Рис. 4. Патогенез синдрома Лиддля (объяснения в тексте).

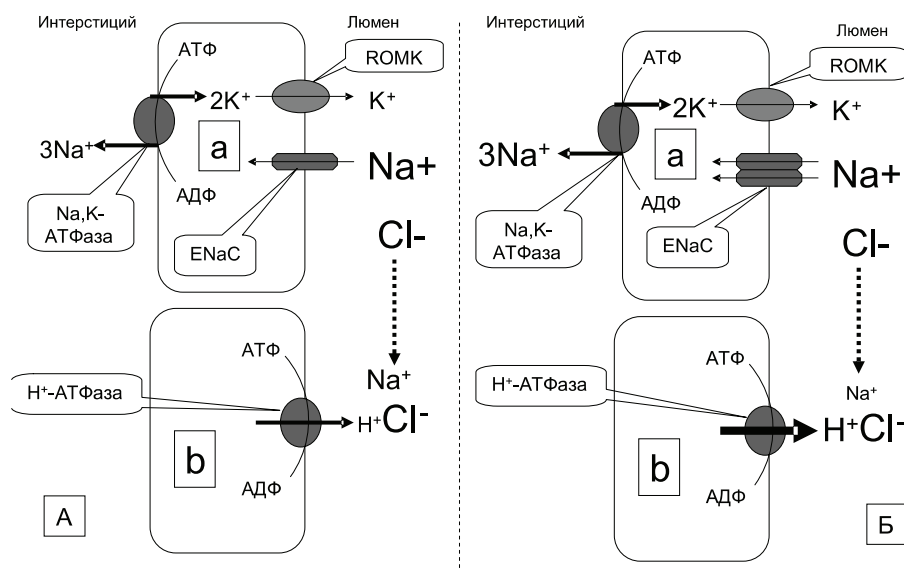


Рис.5. Гипотетический механизм развития алкалоза при синдроме Лиддля. А – норма, Б –синдром Лиддля, а –главная клетка КСТ, б –вставочная α -клетка КСТ. Остальные объяснения в тексте.

делах канальцевого аппарата нефрона приводит к их накоплению в организме и, соответственно, к увеличению эффективного объема внеклеточной жидкости (ЭОВЖ – см. рис. 4). Последнее по механизму обратной связи подавляет активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС – см. рис. 4) с соответствующим снижением КАП (см. рис. 4) вызывает подъем артериального давления (АД – см. рис. 4) и служит основой формирования объемзависимой артериальной гипертензии (см. рис. 4). В связи с этим синдром Лиддля в некоторых кардиологических и эндокринологических публикациях рассматривается как вариант низкорениновой АГ. Стоит, однако, отметить, что КАП при этом состоянии может быть либо сниженной (чаще), либо нормальной (реже).

Нередкой (но, по-видимому, не обязательной) чертой синдрома Лиддля является развитие метаболического алкалоза различной степени выраженности. Интересно, что в некоторых интернет-ресурсах, посвященных данному заболеванию, в качестве одного из клинических проявлений синдрома Лиддля упоминают не метаболический алкалоз, а метаболический ацидоз (напр., [10]). Такая точка зрения, несомненно, ошибочна, поскольку противоречит описаниям случаев этой патологии, имеющимся в медицинской литературе и сведениям, приводящимся в наиболее авторитетных руководствах и обзорах. Тем не менее, подобная ошибка, на наш взгляд, не случайна. Дело в том, что в сознании многих врачей низкие уровни альдостерона (что, в целом, характерно для синдрома Лиддля) обычно справедливо ассоциируются с ацидозом. Однако синдром Лиддля является исключе-

нием из данного правила. С другой стороны патогенетические основы метаболического алкалоза при этом заболевании требуют объяснения. К сожалению, в доступной литературе мы не нашли сведений по данной проблеме, поэтому осмелимся предложить собственную гипотезу. По нашему мнению, наиболее простым объяснением может быть следующее. Предположим, что реабсорбция натрия в главных клетках КСТ и СвК, не сопровождается эквивалентным нарастанием обратного всасывания анионов хлора (рис. 5, А, а). В такой

ситуации сумма отрицательных зарядов в тубулярной жидкости должна несколько увеличиться (см. рис. 5, А, б). В свою очередь, вставочные α -клетки кортикальной собирательной трубки являются важнейшим местом активной секреции ионов водорода, определяющей, прежде всего, деятельностью протонного насоса (H^+ -АТФазы) на апикальных мембранах этих представителей тубулярного эпителия (см. рис. 5, А, б).

Секреция ионов водорода в данном отделе нефрона, наряду с реабсорбцией бикарбоната в проксимальном канальце, является важнейшим механизмом участия почки в поддержании относительного постоянства pH внеклеточной жидкости. Очевидно, что протонной помпе будет работать тем легче, чем больше будет отрицательный заряд канальцевой жидкости, поскольку протоны заряжены положительно, а положительные и отрицательные заряды, как известно, притягиваются. В принципе такой механизм контроля за секрецией ионов водорода в дистальном нефроне хорошо известен и, во многом, определяет уровень их выведения за счет так называемой «эксcreции титруемых кислот». В данном случае протоны, выбрасываемые H^+ -АТФазой в просвет канальца «забуфериваются» в тубулярной жидкости анионными остатками ряда сильных неорганических (тем же хлором, фосфатом, сульфатом) и некоторых органических кислот. При этом в окончательную мочу значительная часть протонов попадает в виде соляной, серной, фосфорной кислот.

Повышение содержания неабсорбируемых или мало реабсорбируемых анионов в содержимом дистальных отделов нефрона, как только что от-

мечалось выше, неизбежно ведет к облегчению канальцевой секреции протонов, увеличивает их экскрецию с мочой и, в конечном итоге, способствует развитию алакалоза. Подобные ситуации отнюдь не редкость в клинической практике. Так, например, во многом можно объяснить формирование алкалоза при действии фуросемида, который по химической структуре является кислотой. Проникая в просвет нефрона в основном за счет проксимальной тубулярной секреции, фуросемид не подвергается дальнейшим превращениям в других отделах почечных канальцев, не реабсорбируется и не секретируется. Поэтому, в дистальных участках нефрона концентрация анионных остатков 5-(Аминосульфони)-4-хлор-2 [(2-фуранилметил)] аминобензойной кислоты, которая и представляет собой данный диуретик, возрастает, электроотрицательность содержимого канальца увеличивается, что ведет к усилению экскреции ионов водорода и служит основой для развития алкалоза.

Вернемся, однако, к синдрому Лиддла. При данном заболевании в КСТ и СвК реабсорбция натрия возрастает (см. рис. 5, Б, а). Если в данном случае, обратное всасывание хлора эквивалентно не увеличится, относительная концентрация этого аниона в канальцевой жидкости (число отрицательных зарядов) повысится, что согласно представлениям, изложенным выше, должно усилить тубулярную секрецию протонов и их потерю с мочой (см. рис. 4 и рис. 5, Б, б).

Одним из возражений против возможности такого механизма формирования алкалоза при синдроме Лиддла может быть то, что увеличение реабсорбции натрия в кортикальных собирательных трубках сопровождается усилением тубулярной секреции калия. В таком случае в просвете канальца наблюдается не только отток (натрий), но и приток (калий) катионов, что в какой-то мере должно компенсировать избыток отрицательных зарядов. Однако, можно предположить, что поступление калия не уравнивает полностью утечку натрия из дистальных отделов нефрона. Лимитирующим фактором здесь может выступать деятельность Na,K-АТФазы, которая вводит в тубулярную клетку только два иона калия в обмен на выведение трех ионов натрия (см. рис. 5). Поэтому внутриклеточного пула калия, подлежащего секреции, в главных клетках КСТ и СвК может не хватить для покрытия дефицита положительных зарядов в тубулярном содержимом.

В любом случае все представления о патогенетических механизмах формирования алкалоза при синдроме Лиддла, описанные выше, остаются су-

Таблица 2

Случаи выявления синдрома Лиддла в Японии (по T. Matsushita и соавт.)

Номер случая	Возраст установки диагноза, лет	Пол	Возраст выявления первых проявлении заболевания, лет
1*	14	Женский	10
2*	16	Мужской	14
3*	17	Мужской	14
4*	21	Мужской	19
5	15	Женский	1
6	21	Женский	14
7	24	Женский	10
8	28	Мужской	14
9	22	Женский	14
10	22	Мужской	22
11	30	Женский	27
12	18	Женский	<18
13	62	Женский	57
14	59	Мужской	52
15	70	Женский	70
16	72	Мужской	57
17	82	Мужской	62
18	79	Мужской	70
19	78	Женский	75

Примечание. *Случаи 1 и 2 и случаи 3 и 4 выявлены у представителей одних и тех же семей.

губо гипотетическими и справедливы они или нет, могут показать только дальнейшие исследования.

Клиника. Как уже указывалось выше, синдром Лиддла является наследственным заболеванием с аутосомно-доминантным типом наследования. По-видимому, он может наблюдаться у представителей разных рас и национальностей. Во всяком случае, известны его описания у англо-саксонцев, испанцев, афро-американцев, японцев и китайцев. [4-6] Как и многие наследственные заболевания, Синдром Лиддла может выявляться у детей разного возраста. Имеются случаи диагностики этого заболевания у новорожденных. Тем не менее, в медицинской литературе известно много описаний первой манифестации (или, во всяком случае, первого выявления) синдрома Лиддла у взрослых и даже пожилых людей. Например, T. Matsushita и соавт. привели следующую статистику диагностики синдрома Лиддла в Японии [4] (табл. 2).

Так или иначе, основными клинико-лабораторными проявлениями синдрома Лиддла являются следующие:

- Объемзависимая артериальная гипертензия,
- Гипокалиемия, в том числе с характерными клиническими проявлениями (напр. см. [1]),
- Метаболический алкалоз (+-),
- Полиурия (-+),
- Снижение концентрации альдостерона плазмы (+-),
- Низкие уровни активности или концентрации ренина плазмы.

При синдроме Лиддля нередко наблюдаются различные кардиоваскулярные осложнения (инфаркты, инсульты), которые, в основном, связывают с наличием трудно контролируемой артериальной гипертензии. Частота таких осложнений по некоторым данным выше, чем при других формах АГ. Стойкое и высокое артериальное давление у таких больных может стать и причиной развития терминальной почечной недостаточности. Такие случаи обычно ассоциируются с несвоевременной диагностикой и неадекватным лечением синдрома Лиддля [5].

Диагноз синдрома Лиддля весьма непростая задача, хотя бы потому, что многие врачи просто не осведомлены о существовании этого заболевания. В принципе, он должен базироваться на тех клинико-лабораторных признаках, которые представлены выше. Огромное значение имеет семейный анамнез и анализ родословных. Хотя, как уже отмечалось ранее, нельзя исключить появление новой мутации у представителей семей, в которых ранее данная болезнь не проявлялась.

Надежным подтверждением диагноза могут служить только результаты молекулярно-генетического анализа, выполнение которого представляет сложную проблему [11]. К сожалению, в современной России этот вопрос практически не разрешим.

Дифференциальный диагноз синдрома Лиддля, пожалуй, еще более сложен, чем просто появление подозрения на наличие данного заболевания. Детальный анализ этой проблемы, прежде всего, требует рассмотрения клинико-патогенетических особенностей целого ряда состояний ассоциирующихся с артериальной гипертензией, гипокалиемией и алкалозом. Описать, по крайней мере, часть из них мы надеемся в последующих сообщениях. Кроме того, дифференциальной диагностике гипокалиемий, на наш взгляд, следует посвятить отдельную лекцию. Поэтому здесь мы приведем только перечень ряда патологий, которые наиболее близко могут имитировать синдром Лиддля:

- Первичный альдостеронизм (синдром Конна),
- Синдром кажущегося избытка минералкортикоидов (дефицит 11 β -ГСДГ II),
- Злоупотребление препаратами или продуктами на основе корня лакрицы (солодки),
- Некоторые варианты синдрома Кушинга,
- Альдостеронизм, корригируемый глюкокортикоидами.

Лечение. На сегодняшний день лечение синдрома Лиддля сводится к следующему:

- Жесткое ограничение потребления соли,
- Коррекция гипокалиемии,

- Назначение калийсберегающих диуретиков (амилорид, триамтерен).

По некоторым данным, бессолевая диета сама по себе, может купировать проявления синдрома Лиддля, по крайней мере, у части больных.

Коррекция гипокалиемии проводится по общим правилам. При наличии клинических или электрокардиографических проявлений данного состояния назначают инфузионную терапию хлоридом калия. Многие пациенты вынуждены получать заместительное лечение солями калия перманентно (чаще всего 10%-15% растворы KCl *per os*). Доза в этом случае определяется индивидуально и обычно делится на 3-4 приема в сутки. При маловыраженной гипокалиемии, по-видимому, возможно назначение официальных препаратов, содержащих соли калия.

Патогенетическим подходом служит назначение калийсберегающих диуретиков (блокаторов ENaC) – амилорида и триамтерена. При этом показано, что одни пациенты лучше реагируют на триамтерен, другие – на амилорид [5]. К сожалению, доступные и дешевые лекарственные формы этих препаратов отсутствуют во всем мире. Чаще они поступают на рынок в виде композитов (например, триампур), которые обычно включают тиазидовые диуретики. Само по себе наличие тиазидов в лекарственной форме, наверное, может быть и добром и злом. С одной стороны они могут усугублять гипокалиемию, с другой – способствовать коррекции объемзависимой гипертензии, характерной для синдрома Лиддля.

Со времен G.W. Liddle принято считать, что применение антагонистов альдостерона (верошпирон) мало эффективно при данном заболевании, что полностью соответствует современным представлениям о его этиопатогенезе. Отсутствие позитивной реакции на терапию спиронолактонами таких больных выдвигается даже в качестве дифференциально-диагностического теста при синдроме Лиддля. В то же время некоторые авторы допускают возможность назначения этого препарата, исходя из того, что он блокирует влияние кортизола на минералкортикоидный рецептор, вызывая нефро- и кардиопротективное действие [12].

С точки зрения о патогенезе синдрома Лиддля использование таких распространенных гипотензивных, нефро-, кардиопротекторных и, потенциально, «гиперкалиемических» препаратов, как ингибиторы ангиотензин I-превращающего фермента или блокаторы AT₁-рецепторов ангиотензина II представляется мало оправданным. Хотя, на наш взгляд, целесообразность их использования целиком исключить нельзя, если признать возможность

сохранения частичного контроля со стороны альдостерона за транспортом ионов натрия и калия в дистальных отделах нефрона при данном заболевании. По нашему мнению, заслуживают внимание и перспективы применения у пациентов с синдромом Лиддла акваретиков – нового класса препаратов, противодействующих гидроосмотическому эффекту вазопрессина, но оказывающих малое влияние на экскрецию солей. Они могут оказаться полезными в коррекции артериальной гипертензии у таких больных. Насколько справедливы данные предположения, может показать только будущее.

В заключение отметим, что существуют наблюдения об успешном использовании заместительной почечной терапии у больных с синдромом Лиддла с терминальной почечной недостаточностью. В этих случаях трансплантация почки от трупного донора практически полностью корректировала метаболические и гемодинамические проявления данного заболевания [5]. Эти данные служат блестящим клиническим подтверждением концепции, выдвинутой еще G.W. Liddle и соавт., о первичной почечной природе впервые описанного ими заболевания.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Каюков ИГ, Смирнов АВ, Шабунин МА и др. Редкие заболевания в практике «взрослого» нефролога: состояния

ассоциированные с гипокалиемией. Сообщение I. Гомеостаз калия, классификация и клиника гипокалиемий. *Нефрология* 2008; 12(4): 81-92

2. Савенкова НД, Папаян АВ, Левиашвили ЖГ. *Тубулопатии в практике педиатра. Руководство для врачей.* Левша, СПб., 2006; 144

3. Liddle GW, Bledsoe T, Coppage WS, Jr. A familial renal disorder simulating primary aldosteronism but with negligible aldosterone secretion. *Trans Assoc Am Phys* 1963; 76: 199-213

4. Matsushita T, Miyahara Y, Matsushita M et al. Liddle's syndrome in an elderly woman. *Intern Med* 1998;37(4):391-395

5. Warnock DG. Liddle syndrome: an autosomal dominant form of human hypertension. *Kidney Int* 1998;53(1):18-24

6. Wang Y, Zheng Y, Chen J, Wu H, Zheng D, Hui R. A novel epithelial sodium channel gamma-subunit de novo frameshift mutation leads to Liddle syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; 67(5):801-804

7. Schafer JA. Abnormal regulation of ENaC: syndromes of salt retention and salt wasting by the collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 283(2):F221-F235

8. Rotin D. Role of the UPS in Liddle syndrome. *BMC Biochem* 2008; 21 [Suppl 1]: S5-S12

9. Левицкий М. Убиквитин. www.krugosvet.ru/articles/125/1012584/1012584a1.htm-23k -; Убиквитин-зависимая система протеолиза: деградация белков. medbiol.ru/medbiol/genexp/00134ef5.htm – 8k -

10. Liddle syndrome. www.bhsoc.org/bhf_factfiles/Liddle%20Syndrome%20Final%20Draft.doc

11. Findling JW, Raff H, Hansson JH, Lifton RP. Liddle's syndrome: prospective genetic screening and suppressed aldosterone secretion in an extended kindred. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(4):1071-1074

12. Monnens L, Levtchenko E. Distinction between Liddle syndrome and apparent mineralocorticoid excess. *Pediatr Nephrol* 2004;19(1):118-119

Поступила в редакцию 20.11.2008 г.

Принята в печать 10.02.2009 г.

© М.Георгиева, Д.Паскалев, 2009
УДК 576.851.5:92 Григоров

М. Георгиева¹, Д. Паскалев²

БОЛГАРСКИЙ ВКЛАД В УЧЕНИЕ О ПРОБИОТИКАХ: СТАМЕН ГРИГОРОВ И ЕГО ЗНАМЕНИТОЕ ОТКРЫТИЕ БАКТЕРИИ *LACTOBACILLUS BULGARICUS*

М. Georgieva, D. Paskalev

BULGARIAN PARTICIPATION IN THE PROBIOTIC STUDY: STAMEN GRIGOROV AND HIS FAMOUS DISCOVERY OF *LACTOBACILLUS* *BULGARICUS*

¹ Кафедра фармакологии, ² отделение нефрологии и гемодиализа медицинского университета «Проф. д-р Параскев Стоянов», г.Варна, Болгария

РЕФЕРАТ

Исследователь Доктор Стамен Григоров (1878-1945) обучается на биологии в Монпельере (Франция) и после в последующем – медицине в Женеве (Швейцария), окончив свое обучение в 1905 году. После систематического изучения Болгарского йогурта в 1905 году, он выделил бактерию приводящую к его брожению, которая была названа в его честь. За свое открытие он получает почетный диплом и премии в Университете Женевы и Институте Луи Пастера. Он отклоняет предложение занять пост ведущего специалиста в Женеве и Сан-Паулу (Бразилия), и возвращается в Болгарию, где работает в качестве окружного и главного врача в госпитале в Тране. Во время Балканской и Первой мировой войны он принимал участие в борьбе против холеры и был удостоен военного креста и Золотого Красного Креста. Он разработал противотуберкулезную вакцину, использовавшуюся в Институте Карло Форланини в Риме (1935).

Ключевые слова: Стамен Григоров, *Lactobacillus bulgaricus*, история.

ABSTRACT

The discoverer Dr Stamen Grigorov (1878-1945) studies the natural sciences in Montpellier (France) and afterwards - medicine in Geneva (Switzerland), where he graduated in 1905. After systematic examinations of the Bulgarian yoghurt in 1905, he isolated the agent of souring, which is called in his honour. He receives for this discovery an honorary diploma and awards by Geneva University and Luis Pastcur Institute. He declines offers about leader's work in Geneva and Sao Paolo (Brazil), he returns to Bulgaria and works as a district and head doctor at hospital in Tran. During the Balkan and First World War contributed to the struggle against the cholera and he is awarded with military cross and Golden Red Cross. He created in his antituberculosis vaccine that used at Carlo Forlanini Institute in Rome (1935).

Key words: Stamen Grigorov, *Lactobacillus bulgaricus*, history.

Сегодня о д-ре Стамене Григорове и его знаменитом открытии *Lactobacillus Bulgaricus* Grigoroff знают немногие.

В этом году отмечают 103 года знаменитого открытия бактерии *Lactobacillus Bulgaricus*. Её открыватель д-р Стамен Григоров после систематических и длительных исследований болгарской простокваши в 1905 году изолировал возбудитель заквашивания, который в его честь назван *Lactobacillus Bulgaricus Grigoroff*.

В самом начале XX века по поручению французского института им. Л. Пастера проводится исследование долголетия на европейском континенте. Следует сенсационное открытие, что больше

всего долгожителей живут в Болгарии. Тогда же великий ученый, лауреат Нобелевской премии, проф. Илья Мечников упорно занимается проблемами старения, считая, что старость – это болезнь, которую нужно лечить [1]. Именно он, вместе с проф. Массоль, первым направил свое внимание на кислое молоко – основную пищу болгар, которое производилось только в Болгарии. Так как молодой Стамен Григоров был ассистентом профессора Массоль в Женеве, ему была поставлена задача установить, что собой представляет заквашивание типично болгарского продукта.

Вернемся немного назад во времени – год 1878, 27 октября. После 500-летнего ига над его родной только-что взошло солнце свободы. В деревне Извор, недалеко от города Трын, взошла звезда ребенка. В поле рождается мальчик, которому родители дают имя Стамен, что означает «камень».

Dobrin Paskalev, Clinic of Nephrology and Dialysis University Hospital «St. Marina», Medical University «Prof. Dr. P. Stoyanov», 55 Marin Drinov Str., Varna, 9002, Bulgaria; Tel: +359 52 302 851, int.296; E-mail:dobrinpaskalev@yahoo.com



Рис. 1. Д-р Стамен Григоров.

Стамен Григоров оканчивает гимназию в Софии с отличием. Его привлекают новые революционные открытия – труд Дарвина «Происхождение видов». Он пишет реферат на тему «Эволюция животного мира и религия», который с большим интересом читается болгарской прогрессивной молодежью. После окончания гимназии он уезжает в Монпелье, Франция, изучать естественные науки. Будучи студентом на последнем курсе, он решил записаться на Медицинский факультет. Он пишет трогательное письмо отцу, но ответ отца отрицательный – сбережения кончились. Но Стамену помогли благородные люди и он продолжил свое медицинское образование в Женеве. Здесь он доходит до убеждения, что наука делает человека сильным, она может дать ему оружие против всех болезней. И самое главное, она может помочь в борьбе с туберкулезом – самой жестокой болезнью того времени. В Женевском Университете Стамен Григоров располагает современными обо-



Рис. 2. Дом-музей Стамена Григорова.



Рис. 3. Стамен Григоров (в середине) – студент в Женеве.

рудованными лабораториями, которые проф. Массоль предоставил ему для его исследований. Прежде всего он должен был закончить исследования болгарского кислого молока.

Молодой ученый убежден, что оно обладает лечебной силой. В Швейцарии кислого молока нет, но его супруга Даринка находит способ снабжать его необходимым количеством молока из Болгарии. Эксперименты проводятся усиленными темпами – до поздней ночи, а иногда и до рассвета. Однажды, после долгих часов наблюдения под микроскопом, молодой ученый вздрагивает от радости. Наконец его взгляд уловил «палочку», заквашивающую молоко. В радостном возбуждении он спешит показать свою находку профессору. В тот же день проф. Массоль посылает письмо проф. Мечникову в Институт им. Пастера в Париже: «Мой ассистент, болгарин Стамен Григоров, отличается большим упрямством в своей научно-исследовательской работе. Он редчайший славянин. После многочисленных и последовательных опытов в моей лаборатории, он сумел открыть и изолировать возбудитель болгарского кислого молока. При том его закваска прибыла прямо из Болгарии. Ты работаешь, вдохновленный стремлением найти средство, которое смогло бы продлить жизнь человека. После твоих замечательных «фагоцитов», подумай о болгарском кислом молоке и об этой

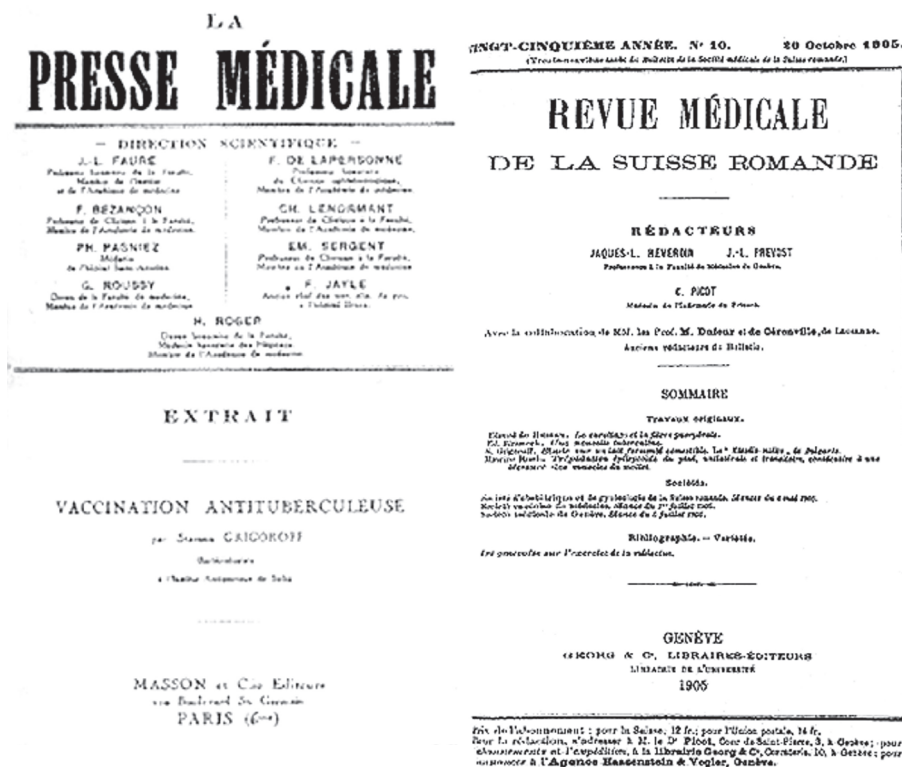


Рис. 4. Публикации в Женеве.

бацилле в виде палочки, которую Григоров открыл и которую я лично видел под микроскопом. Может быть она будет тебе полезна» [1, 2].

Открытию посвящено заседание в торжественном зале женевского университета. Профессор Массоль представил молодого ученого и высоко оценил сделанное им открытие. Похвальные слова произносят выдающиеся ученые-медики: проф. Лавердин, проф. Прево и д-р Пиколь. Под бурные аплодисменты академиков, студентов и гостей проф. Массоль вручил Стамену Григорову почетную грамоту за открытие, ленту-отличие и чек с денежной наградой Женевского Университета.

В ответ на письмо профессора Массоль, профессор Мечников посылает приглашение Стамену Григорову посетить институт им. Пастера. В Большом зале болгарин читает доклад об открытой им лактобацилле. В качестве доказательства он несет с собой микроскоп и кислое молоко в специальном сосуде, в которых сохраняют ее в его родном крае.

Стамена Григорова постиг исключительный успех. Мечников поздравляет его, обнимает и советует не прерывать научно-исследовательскую работу. Руководство института им. Пастера поручает проф. Мечникову подтвердить открытие Стамена Григорова и доложить о результатах перед Советом Института. Это происходит лишь три года спустя, когда в 1908 году выходит публикация «Не-

сколько слов о кислом молоке». Отзывы об открытии делают выдающиеся европейские ученые – немецкий микробиолог Лорер в 1908 г., поляк Белековский в 1907 г. и др. Вскоре после этого Коенди и Микельсон, ассистенты Мечникова, называют открытый Григоровым микроорганизм *Bacillus bulgaricus* (Grigoroff).

В июле 1905 года Стамен Григоров защищает докторскую диссертацию на тему «Вклад в изучение патогенеза аппендицита» и ему присваивают степень «Доктор по медицине – бактериологии, внутренним и грудным болезням». Вскоре после этого он отклоняет предложение стать руководителем только что сформированного Института им.

Пастера в Сан-Паулу, Бразилия, как и предложение профессора Массоль остаться и работать в Женевском Университете [3].

В конце 1905 года болгарский ученый возвращается на родину. Он работает земским врачом и начальником больницы в городе Трын. Но в нем продолжает жить дух исследователя. Он продолжает жить дух исследователя. Он продолжает исследовать под микроскопом – подарок профессора Массоль, пробы крови, мокроту пациентов, с целью создать вакцину против туберкулеза. Двадцать девятого декабря 1906 года в авторитетном журнале «La presse medicale» в Париже выходит его статья «Vaccination antituberculeuse». Д-р Стамен Григоров намерен испытать свою вакцину для лечения человека от туберкулеза после того как его эксперименты подтвердят ведущие исследователи. Д-р Григоров испытывает эту вакцину в 30-е годы XX века в нескольких итальянских туберкулезных санаториях.

К сожалению, эти достижения д-ра Стамена Григорова до сих пор остаются неизвестными. В этом же 1906 году два французских ученых из института им. Пастера провозглашают свой метод противотуберкулезной иммунизации – это д-р Алберт Калмет и д-р Камий Герен. Эту вакцину впервые применили на людях в 1921 году во Франции.

Во Время Балканской войны д-р Григоров уходит на фронт. Он лечит тысячи раненых, умирающих от голода или холеры. Его профессиональный

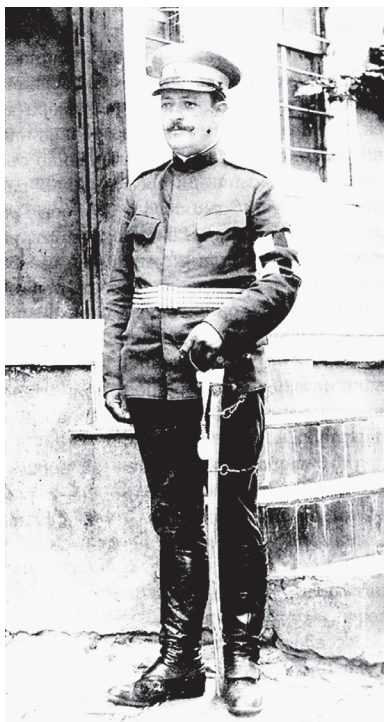


Рис. 5. Военный врач Стамен Григоров.

взгляд не пропускает ни одного факта – голодающие солдаты, которые кормились корочками хлеба, покрытого плесенью, избавляются от смертоносной холеры. Демобилизованный после войны, он снова возвращается в Трынскую больницу.

Снова во время Первой мировой войны он на своем посту. Как майор санитарных частей он ведет борьбу против вспыхнувшей в конце войны эпидемии холеры. В его районе около города Петрич эта борьба как среди солдат, так и среди местного населения оказалась самой успешной. За свою службу он награжден самым высоким отличием – «Орденом за Отвагу». Получил еще и «Золотой



Рис. 6. Открыватель молочнокислой бактерии.



Рис. 7. Болгарское кислое молоко.

Красный крест». По окончании войны он возвращается в свой город и превращает больницу в центр для лечения больных с грудными заболеваниями. С 1922 по 1924 г. он начинает применение своей противотуберкулезной вакцины и при лечении рака в клинике известного болгарского хирурга проф. Парашкева Стоянова в Александровской больнице в Софии [1]. Получает обнадеживающие результаты. После 20-летней работы в Трынской больнице д-р Григоров становится заведующим отделением грудных болезней в г. Велико Тырново, после чего переезжает в г. Горна Оряховица, г. Провадия, г. Варна, а в 1935 году уезжает в Италию.

В Милане он продолжает свои исследования в известных туберкулезных санаториях. Его метод лечения пользуется большим успехом. Итальянские медики называют его метод «кура булгара», – а пациенты – «булгари». Об этом свидетельствуют и публикации в болгарской прессе того времени.

В Италии д-р Григоров работает почти 9 лет. К его способностям проявляется большой интерес, приглашают на работу в Риме и в санаториях в Швейцарии, делаются попытки купить права на его противотуберкулезный препарат, но на крайне неблагоприятных условиях. Его работу в Италии после Второй мировой войны с успехом продолжает его сын – д-р Александр Григоров.

Выдающийся болгарский открыватель и врач Стамен Григоров, открывший миру тайну долголетия, заканчивает свой земной путь в Болгарии 27 октября 1945 года. В этом году исполнилось 60 лет со дня его смерти.

Сегодня болгарские и иностранные ученые применяют молочнокислые бактерии при лечении ряда заболеваний – в хирургии, онкологии, гастроэнтерологии, стоматологии. Исследования показывают, что пробиотические лактобациллы играют важную роль для сбалансированного питания человека и имеют благоприятный эффект при заболеваниях желудка, гастроинтестинальных инфекциях, пече-

ночных заболеваниях, болезни Крона, язвенном колите, сердечнососудистых заболеваниях, обладают антиопухолевым, лучезащитным, антигиперлипидемическим, антиаллергическим и иммуномодулирующим эффектами [4–11].

Разносится мировая слава болгарского кислого молока. Сегодня никто не сомневается в его питательных и лечебных качествах. Японцы боготворят его. На каждой упаковке болгарского кислого молока, распространяемого фирмой «Мейджи», написано имя открывателя молочнокислой бактерии, д-ра Стамена Григорова.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Гълъбов А. 100 години от откритието на *L. Bulgaricus Grigoroff*. Интернационален симпозиум за оригиналното българско кисело мляко. София, 25-27, май 2005
2. Александров Н. *Пробиотиците-добрите бактерии на българското кисело мляко*. Motion publishing, София; 2003
3. Стаменов М. *Изобретатели*. София, Книгоиздателска Къща «Труд», 2003; 127-130
4. Миланов А. *Борци за живот*. София, Медицина и Физкултура, 1964; 132-152
5. Halpern GM, Vruwink KG, van de Water J, Keen CL, Gershwin ME. Influence of long-term yogurt consumption in young adults. *Int J Immunother* 1991; 7: 205–210
6. Hilliam M. Functional foods in Europe. *The World of Ingredients* 1998, March/April: 45–7
7. Isolauri E, Sitas Y, Kankanpa P, Arvilommi H, Salminen S. Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr* 2001; 73[suppl]: 444S–450S
8. Kalliomaki M, Isolauri E. Role of intestinal flora in the development of allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003; 3: 15–20
9. Ovesen L. Regulatory aspects of functional foods. *Eur J Cancer Prev* 1997; 6: 480–482
10. Perdigon G, Alvarez S, Rachid M, Aguero G, Gobatto NJ. Immune system stimulation by probiotics. *J Dairy Sci* 1995; 78: 1597–1606
11. Peltto L, Isolauri E, Lilius EM, Nuutila J, Salminen S. Probiotic bacteria down-regulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 1474–1479

Поступила в редакцию 13.11.2008 г.
Принята в печать 10.02.2009 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 диске, компакт-диске или дополнительно присланы в редакцию по электронной почте!

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.

Рубрикация обзоров, лекций, дискуссионных статей 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 транскрипции). 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. Реферат оригинальной статьи 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 индекси-

рованию статьи в информационно-поисковых системах. *Рефераты обзоров, лекций, дискуссионных статей составляются в произвольной форме.*

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.). Упоминаются 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 упомянуть 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 статистические методы, использованные для представления вариабельности данных и достоверности различий.

При представлении в электронном виде 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 глянцевой бумаге). 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 в электронном виде в форматах *PCX, *TIF, *BMP, *JPG. Иллюстрации, как правило, публикуются в черно-белом варианте. *Иллюстрации могут быть опубликованы в цветном формате за счет авторов.* Авторы, желающие поместить иллюстрации в таком виде, должны предварительно согласовать данный вопрос с редакцией.

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 pulmonary 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 и читатели могут вести переписку и по возможности указать номер его факса и, в обязательном порядке, E-mail. Поскольку информация о контактном лице размещается в журнале, не рекомендуется указывать домашние адреса.

Редколлегия 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.

Авторские гонорары журнал не выплачивает.

Автор (авторы) материалов, представленных в журнал «Нефрология» для публикации передают журналу на безвозмездной основе на неограниченный срок следующие права:

1. Право на воспроизведение (опубликование, обнародование, дублирование, тиражирование или иное размножение материалов) без ограничения тиража экземпляров. При этом каждый экземпляр материалов должен содержать имя автора (авторов);
2. Право на распространение материалов любым способом;
3. Право на переработку материалов (создание на его основе нового, творчески самостоятельного произведения) и право на внесение изменений в материалы, не представляющих собой их переработку;
4. Право на публичное использование материалов и демонстрацию их в информационных, рекламных и прочих целях;
5. Право на доведение до всеобщего сведения;
6. Право переуступить на договорных условиях частично или полностью полученные по настоящему договору права третьим лицам без выплаты автору (авторам) вознаграждения;
7. Автор (авторы) гарантирует, что материалы, права на использование которых переданы журналу, являются оригинальным произведением автора (авторов);
8. Автор (авторы) гарантируют, что данные материалы никому ранее официально (т.е. по формально заключенному договору) не передавались для воспроизведения и иного использования;
9. Автор (авторы) передает права журналу на основе неисключительной лицензии;
10. Журнал обязуется соблюдать предусмотренные действующим законодательством авторские права, права автора (авторов), а также осуществлять их защиту и принимать все возможные меры для предупреждения нарушения авторских прав третьими лицами;
11. Территория, на которой допускается использование прав на материалы, не ограничена.

Направление автором (авторами) материалов в журнал «Нефрология» для публикации считается согласием автора (авторов) на передачу журналу прав, перечисленных выше.

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 журнал индекс издания 45861 количество комплектов:		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> Куда почтовый индекс адрес		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																
Кому фамилия, инициалы																											

Доставочная карточка на газету журнал индекс издания 45861 количество комплектов		наименование издания Стоимость подписки руб. коп. Количество комплектов 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> Куда почтовый индекс адрес		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																
Кому фамилия, инициалы		Телефон:																									

Абонемент на газету журнал индекс издания 45860 количество комплектов:		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> Куда почтовый индекс адрес		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																
Кому фамилия, инициалы																											

Доставочная карточка на газету журнал индекс издания 45860 количество комплектов		наименование издания Стоимость подписки руб. коп. Количество комплектов 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> Куда почтовый индекс адрес		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																
Кому фамилия, инициалы		Телефон:																									

	Абонемент на газету журнал		индекс издания 47959									
			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		индекс издания 47959									
	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:												