

НЕФРОЛОГИЯ NEPHROLOGY

ИЗДАТЕЛЬСТВО СПбГМУ
ИЗДАТЕЛЬСТВО «ЛЕВША»
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ • 2010

SAINT PETERSBURG PAVLOV STATE
MEDICAL UNIVERSITY

NORTH-WEST NEPHROLOGY
AND DIALYSIS ASSOCIATION

SPC «NEPHRON»

NEPHROLOGY

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

ИЗДАТЕЛЬСТВО СПбГМУ
ИЗДАТЕЛЬСТВО «ЛЕВША»
ST.PETERSBURG • 2010

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

СЕВЕРО-ЗАПАДНАЯ АССОЦИАЦИЯ
НЕФРОЛОГОВ И ВРАЧЕЙ ДИАЛИЗА

НПО «НЕФРОН»

НЕФРОЛОГИЯ

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 • 2010

ВНИМАНИЮ ЧИТАТЕЛЕЙ

Дорогие коллеги!

Напоминаем Вам, что наш журнал выходит 4 раза в год – в конце каждого квартала.

Для Вас имеется новая возможность оформления подписки на наш журнал.

Вы можете пользоваться услугами для подписки не только Агентства «Роспечать», но и заказать журнал на почте по каталогу «Пресса России», подписной индекс **43280**, а также на сайте **www.akc.ru**.

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: годовой индекс – 47959;
- для организаций: на полугодие индекс – 45861;
- для организаций: годовой индекс – 80256.

Корректор Л.Н.Агапова
Переводчик Н.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 08.02.2010. Подписан в печать 07.04.2010.
Формат бумаги 60х90^{1/8}. Бумага офсетная.
Печать офсетная. Печ. л. 8. Тираж 650 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, 2010

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.

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

**ФАКУЛЬТЕТ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБУЧЕНИЯ
КАФЕДРА НЕФРОЛОГИИ И ДИАЛИЗА**

План циклов на 2010 г.

№	Наименование цикла и контингент слушателей	Вид обучения	Продолжительность (нед.)	Сроки проведения
1.	«Клиническая нефрология и диализ» Врачи нефрологических и диализных отделений	ТУ	8	18.01 – 13.03
2.	«Нефрология» Врачи нефрологических и диализных отделений, терапевты, анестезиологи, урологи, хирурги, педиатры	ПП	14	18.01 – 24.04
3.	«Избранные вопросы терапии с основами нефрологии» Участковые врачи, врачи общей практики, врачи скорой помощи, врачи терапевтических отделений	ТУ	4	18.01 – 13.02
4.	«Клиническая нефрология и диализ» Врачи нефрологических и диализных отделений	ТУ	8	22.03 – 15.05
5.	«Нефрология» Врачи нефрологических и диализных отделений, терапевты, анестезиологи, урологи, хирурги, педиатры	ПП	14	22.03 – 26.06
6.	«Избранные вопросы терапии с основами нефрологии» Участковые врачи, врачи общей практики, врачи скорой помощи, врачи терапевтических отделений	ТУ	4	22.03 – 17.04
7.	«Сестринское дело в нефрологии и диализе» Медицинские сестры отделений нефрологии и диализа	ТУ	4	18.05 – 06.06
8.	«Клиническая нефрология и диализ» Врачи нефрологических и диализных отделений	ТУ	8	21.09 – 31.10
9.	«Нефрология» Врачи нефрологических и диализных отделений, терапевты, анестезиологи, урологи, хирурги, педиатры	ПП	14	21.09 – 26.12
10.	«Избранные вопросы терапии с основами нефрологии» Участковые врачи, врачи общей практики, врачи скорой помощи, врачи терапевтических отделений	ТУ	4	21.09 – 17.10
11.	«Сестринское дело в нефрологии и диализе» Медицинские сестры отделений нефрологии и диализа	ТУ	4	30.11 – 19.12

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

Глубокоуважаемые коллеги!

Приглашаем Вас принять участие в работе VII съезда Научного общества нефрологов России, который состоится 19-22 октября 2010г. в Москве.

С основной тематикой съезда, оформлением заявок на участие, правилами оформления тезисов, вопросами вступления в общество и оплаты взноса Вы можете ознакомиться в информационном письме №1.

**VII съезд Научного Общества Нефрологов России (НОНР)
19-22 октября 2010 г., г. Москва**

Информационное письмо №1

Основная тематика Съезда:

1. Проблемы диагностики, лечения и профилактики хронической болезни почек
 2. Физиология и патофизиология почки
 3. Образ жизни и болезни почек
 4. Возрастные проблемы (педиатрические, геронтологические, беременность и почки)
 5. Первичные и вторичные (в рамках СКВ, системных васкулитов, гепатита В и С) гломерулонефриты
 6. Сосудистые и метаболические поражения почек (при гипертонической болезни и атеросклерозе, тромботических микроангиопатиях, подагре, ожирении, метаболическом синдроме, диабете, амилоидозе и т. д.)
 7. Проблемы урологии в практике нефролога
 8. Инфекционные поражения почек
 9. Острое повреждение почек
 10. Современные достижения и перспективные технологии заместительной почечной терапии
 11. Трансплантация почек
 12. Вопросы профессионального медицинского образования и подготовки кадров для нефрологической службы
- Научная программа и место проведения съезда будут представлены в информационном письме №2, а также на сайтах съезда www.nephrologyjournal.ru и www.mma.ru/expo

Тезисы съезда будут опубликованы бесплатно в отдельном сборнике. С правилами оформления тезисов можно ознакомиться в Приложении № 2. Оргкомитет принимает тезисы до **1 июня 2010 г.**

В рамках съезда планируется проведение конкурса молодых ученых. Лучшие работы будут награждены и представлены в виде устных докладов на отдельном заседании. С правилами оформления работ на конкурс можно ознакомиться в Приложении № 3. Оргкомитет принимает работы до **1 июня 2010 г.**

Для участия в Съезде необходимо:

1. Заполнить заявку участника

- заполненную заявку участника (см. Приложение № 1) необходимо отправить до 1 сентября 2010 года, в адрес Оргкомитета:

по почте: 119991, г. Москва, ул. Россолимо, дом 11, строение 4, Научное общество нефрологов России, Бобковой Ирине Николаевне.

по факсу: 8 (499) 248-41 -66

e-mail: nephrocongress@yandex.ru или irbo.mmm@mail.ru

2. Заплатить Организационный взнос участника съезда.

Организационный взнос оплачивается на месте при регистрации

Размер Организационного взноса

1. Участники съезда, не являющиеся членами НОНР-800 рублей
2. Члены НОНР, оплатившие членский взнос за 2010 г. После 1 сентября 2010 г. – 800 рублей
3. Члены НОНР, оплатившие членский взнос за 2010г. до 1 сентября 2010 г. – 600рублей
4. **Льготные категории** участников съезда – 400 рублей
5. **От уплаты организационного взноса освобождаются** победители конкурса молодых ученых.

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

При оплате организационного взноса Вы получаете папку бейдж участника и материалы съезда. Бейдж является пропуском на все мероприятия Съезда.

Порядок оплаты и размер членского взноса НОНР:

1. Членский взнос за 2010 г. в размере 600 рублей может быть перечислен на расчетный счет НОНР в любом отделении Сбербанка России (банковские реквизиты представлены в Приложении №5). Ксерокопия квитанции об оплате взноса с четким указанием ФИО члена НОНР может быть отправлена в орг.комитет по указанным выше почтовому адресу, факсу или предъявлена на месте при регистрации.

2. Членский взнос за 2010 г. в размере 600 рублей может быть оплачен на месте при регистрации (будет выдана квитанция об оплате).

Приложение №2

Требования к оформлению тезисов:

1) Лист А4, ориентация книжная, шрифт – Times New Roman, кегль 12, межстрочный интервал 1,0, поля 2 см, объём не более 1,5 стр.

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

3) Тезисы должны иметь следующую структуру:

• цель исследования, • материалы и методы, • результаты, • заключение, выводы, • ключевые слова.

4) 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;
- 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.

Образец:

П.П. Петров, И.И. Иванов, С.С. Сидоров
ОСОБЕННОСТИ НЕФРИТА ПРИ СИСТЕМНОЙ
КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ СРЕДИ РОДСТВЕННИКОВ
Россия, Москва, Медицинская академия им. И.М.Сеченова

Вместе с тезисами отправляется информация о первом авторе:

ФИО (полностью) _____
Место жительства: индекс _____ адрес _____
Место работы: _____
Тел.: дом. _____ раб. _____ сотовый _____
E-mail: _____
В какой форме Вы хотели бы представить свой материал?
☐ Публикация тезисов
☐ Устный доклад и публикация тезисов

Все тезисы будут проходить научное рецензирование. Оргкомитет оставляет за собой право отказа в публикации материалов, о чем авторы будут своевременно информированы.

Тезисы Съезда будут опубликованы бесплатно в отдельном сборнике. Оргкомитет принимает тезисы до **1 июня 2010 г.**

Приложение №3.**Требования к оформлению работ на конкурс молодых ученых.****Порядок подачи заявок:**

К участию в конкурсе приглашаются молодые исследователи (студенты, интерны, ординаторы, аспиранты в возрасте до **35 лет**). Прием работ осуществляется до **1 июня 2010 г.**

Для участия в конкурсе необходимо заполнить электронную или печатную форму заявки и вместе с конкурсной работой отправить по почтовому или электронному адресам, указанным выше.

Образец заявки

ФИО первого автора (полностью) _____
Место жительства: индекс _____ адрес _____
Учреждение, должность: _____
Тел. дом. _____ раб. _____ сотовый _____
E-mail: _____
Название работы _____
ФИО научного руководителя _____
Учреждение, должность научного руководителя _____
Тел.: научного руков. _____ раб. _____ сотовый _____
E-mail научного руков. _____

При оформлении работ должны соблюдаться следующие требования:

1) Лист А4, ориентация книжная, шрифт – Times New Roman, кегль 12, межстрочный интервал 1,5, поля 2см, объем не более 10 стр., включая иллюстрации и список литературы. Для иллюстрации работы возможно использование таблиц, графиков, фотографий, схем.

2) Работа должна иметь следующую структуру:

• Титульный лист – указать авторов (первый автор-участник конкурса, соавторы не более 3). название работы, город, учреждение

• Резюме, ключевые слова (1стр.)

• Содержание работы, включающее разделы:

- Актуальность
- Цель, задачи
- Материалы и методы
- Результаты
- Заключение, выводы
- Список литературы (не более 15)

Присланные работы пройдут независимую экспертизу, лучшие работы будут опубликованы, авторы приглашены для выступления с устным докладом на отдельном заседании съезда.

ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ

ФЕРРИ С.
Смешанная криоглобулинемия

ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

ЗВЕРЕВ Я.Ф., ЖАРИКОВ А.Ю., БРЮХАНОВ В.М.,
ЛАМПАТОВ В.В.
Модуляторы оксалатного нефролитиаза.
Ингибиторы кристаллизации

СЕРОВ В.А., ШУТОВ А.М., МЕНЗОРОВ М.В.,
МАКЕЕВА Е.Р., СЕРОВА Д.В.
Эпидемиология хронической болезни почек у больных
с хронической сердечной недостаточностью

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ**Клинические исследования**

ЯКОВЕНКО А.А., КУЧЕР А.Г., РУМЯНЦЕВ А.Ш.
Значение интерлейкина-6 в патогенезе «уремической
недостаточности питания» у пациентов с терминальной
почечной недостаточностью, получающих лечение
хроническим гемодиализом

МУХОЕДОВА Т.В., УНАРОКОВ З.М.
Опыт применения sustained low efficiency
dialysis (SLED) - технологий заместительной почечной
терапии в лечении кардиоренального синдрома
с диуретик-рефрактерными отеками

Экспериментальные исследования

МОТИНА Н.В., ЗВЕРЕВ Я.Ф., ЛЕПИЛОВ А.В.,
ЛАМПАТОВ В.В., ЖАРИКОВ А.Ю., ТАЛАЛАЕВА О.С.
Оксидативное повреждение почек при
экспериментальном оксалатном нефролитиазе

СМИРНОВ И.В., БРЮХАНОВ В.М., БОНДАРЕВ А.А.,
ЗВЕРЕВ Я.Ф., ПОСТНИКОВ П.С., ФИЛИМОНОВ В.Д.
Сравнительное исследование диуретической и
салуретической активности фуросемида и йод-
фуросемида в эксперименте на крысах

БРЮХАНОВ В.М., СМЕРНОВ И.В., БОНДАРЕВ А.А.,
ЗВЕРЕВ Я.Ф.
Подкисление мочи как фактор, повышающий
диуретическую и салуретическую активность
фуросемида у крыс

ЖУРНАЛ В ЖУРНАЛЕ**Актуальные проблемы урологии**

ЗАВЬЯЛОВА Е.С., КОРНЕЕВ И.А., ЯГМУРОВ О.Д.,
АЛЬ-ШУКРИ А.С.
Значение классических морфологических признаков
для прогнозирования течения переходного-клеточного
рака мочевого пузыря

САПЕЛКИН А.В., ПОНОМАРЕВА Ю.А., КРЮКОВА Н.Ю.
Изменение показателей почечного кровотока у больных
уретеролитиазом в зависимости от различных методов
послеоперационного дренирования верхних мочевых
путей после рентгеноэндоскопических методов лечения

LEADING ARTICLE

FERRI C.
Mixed cryoglobulinemia

REVIEWS AND LECTURES

ZVEREV Ya.F., ZHARIKOV A.Yu., BRUKHANOV V.M.,
LAMPATOV V.V.
Modulators of oxalate nephrolithiasis.
Inhibitors' crystallization

SEROV V.A., SHUTOVA A.M., MENZOROV M.V.,
MAKEEVA E.R., SEROVA D.V.
Epidemiology of chronic kidney disease patients with
chronic heart failure

ORIGINAL ARTICLES**Clinical investigations**

YAKOVENKO A.A., KUCHER A.G., RUMYANTSEV A.Sh.
the importance of interleukin-6 in the pathogenesis
of «uremic malnutrition» in patients with and stage renal
disease being treated for chronic hemodialysis

MUKHOEDOVA T.V., UNAROKOV Z.M.
Experience of sustained low efficiency dialysis (SLED)-
methods renal replacement therapy in treatment
cardiorenal syndrome with diuretic-refractory edemas

Experimental investigations

MOTINA N.V., ZVEREV Ya.F., LEPILOV A.V.,
LAMPATOV V.V., ZHARIKOV A.Yu., TALALAEVA O.S.
Oxidative damage of kidney in experimental oxalate
nephrolithiasis

SMIRNOV I.V., BRUKHANOV V.M., BONDAREV A.A.,
ZVEREV Ya.F., POSTNIKOV P.S., FILIMONOV V.D.
Comparative study of diuretic and saluretic activity of
furosemide and iodine-furosemide in
experiments on rats

BRYKHANOV V.M., SMIRNOV I.V., BONDAREV A.A.,
ZVEREV Ya.F.
Acidifying of urine as a factor which increases diuretic
and saluretic furosemide activity in rats

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

ZAVIALOVA E.S., KORNEEV I.A., YAGMUROV O.D.,
AL-SHUKRI A.S.
The value of classical morphological features to predict
the course of transitional cell carcinoma
of the bladder

SAPELKIN A.V., PONOMAREVA Yu.A., KRUKOVA N.Yu.
Dynamics of renal blood flow indexes in patients with
ureteral stones depending of methods postoperation
drainage

**ПРОГРАММА НЕПРЕРЫВНОГО
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ПО НЕФРОЛОГИИ**

ВОЛКОВ М.М., КАЮКОВ И.Г., СМІРНОВ А.В.
Фосфорно-кальцевый обмен и его регуляция

НАБЛЮДЕНИЯ ИЗ ПРАКТИКИ

СМІРНОВ А.В., ТРОФИМЕНКО И.И., ШУМИЛИНА А.А.,
ИВАНОВ О.И., СИПОВСКИЙ В.Г., ТИТОВА В.А.,
ЗВЕРЬКОВ Р.В.
Быстро прогрессирующий нефритический синдром у
пациентки с криоглобулинемическим васкулитом,
ассоциированным с хроническим вирусным
гепатитом С

**PROGRAMME OF CONTINUOUS
POSTGRADUATE EDUCATION ON
NEPHROLOGY**

91 VOLKOV M.M., KAYUKOV I.G., SMIRNOV A.V.
Phosphorus-calcium metabolism and its regulation

PRACTICAL NOTES

104 SMIRNOV A.V., TROFIMENKO I.I., SHUMILINA A.A.,
IVANOV O.I., SIPOVSKY V.G., TITOVA V.A.,
ZVERKOV R.V.
Rapidly progressive nephritic syndrome in patients with
cryoglobulinemic vasculitis associated with chronic
hepatitis C

© С.Ферри, 2010
УДК 616.153.962.4-008.61+616.36-002-022

С. Ферри¹

СМЕШАННАЯ КРИОГЛОБУЛИНЕМИЯ

C. Ferri

MIXED CRYOGLOBULINEMIA

¹Кафедра ревматологии университета Модены и области Эмилия, Италия

РЕФЕРАТ

Смешанная криоглобулинемия (СК), тип II и тип III, – это заболевание, при котором в сыворотке крови выявляют циркулирующие криопреципитирующие иммунные комплексы и которое проявляется классической триадой симптомов: пурпурой, слабостью и артралгиями. Считается, что СК – редкое заболевание, однако, истинная заболеваемость остается неизвестной. Заболевание чаще встречается в Южной Европе по сравнению с Северной Европой или с Северной Америкой. Распространенность «эссенциальной» криоглобулинемии составляет приблизительно 1:100 000 (соотношение женщин и мужчин при этом 3:1), однако, этот термин в настоящее время используют только в отношении небольшого числа случаев СК. СК характеризуется вовлечением в процесс различных органов: кожа (ортостатическая пурпура, язвы), хронический гепатит, мембрано-зенопролиферативный гломерулонефрит, периферическая нейропатия, диффузный васкулит и, реже, интерстициальные поражения легких и эндокринные нарушения. Как позднее осложнение, у некоторых пациентов могут развиваться злокачественные поражения лимфатической системы и печени. СК может быть ассоциирована с различными инфекциями и иммунными заболеваниями. При отсутствии подобной ассоциации СК представляет собой самостоятельное заболевание, так называемую «эссенциальную» СК. Этиопатогенез СК окончательно не ясен. Предполагают, что инфицирование вирусным гепатитом С (HCV) играет причинную роль, однако, с вкладом генетических и/или средовых факторов. Более того, СК может быть связана и с другими инфекционными агентами и иммунными расстройствами, такими как вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) или первичный синдром Шегрена. Диагностика основывается на клинических и лабораторных данных. Циркулирующие смешанные криоглобулины, низкий уровень С4 и ортостатическая кожная пурпура являются классическими признаками болезни. Типичной патоморфологической находкой является лейкоцитокластический васкулит с вовлечением сосудов среднего и, более часто, мелкого диаметра, который выявляется при биопсии свежих кожных высыпаний. Дифференциальный диагноз необходимо проводить с широким спектром системных, инфекционных, неопластических процессов, главным образом с аутоиммунным гепатитом, синдромом Шегрена, полиартритом и В-клеточными лимфомами. Терапия СК первой линии должна включать эрадикацию вируса гепатита С путем комбинированного применения интерферона и рибавирина. Патогенетическая терапия (иммуносупрессия, ГКС и/или плазмаферез) должна соответствовать тяжести клинических проявлений и их прогрессирования в каждом конкретном случае. При СК необходимо длительное наблюдение для своевременной диагностики и лечения угрожающих жизни осложнений. Общий прогноз хуже у пациентов с вовлечением почек, печеночной недостаточностью, лимфопролиферативными заболеваниями, злокачественными образованиями.

Ключевые слова: смешанная криоглобулинемия, этиопатогенез, диагноз, лечение.

ABSTRACT

Mixed cryoglobulinemia (MC), type II and type III, refers to the presence of circulating cryoprecipitable immune complexes in the serum and manifests clinically by a classical triad of purpura, weakness and arthralgias. It is considered to be a rare disorder, but its true prevalence remains unknown. The disease is more common in Southern Europe than in Northern Europe or Northern America. The prevalence of 'essential' MC is reported as approximately 1:100,000 (with a female-to-male ratio 3:1), but this term is now used to refer to a minority of MC patients only. MC is characterized by variable organ involvement including skin lesions (orthostatic purpura, ulcers), chronic hepatitis, membranoproliferative glomerulonephritis, peripheral neuropathy, diffuse vasculitis, and, less frequently, interstitial lung involvement and endocrine disorders. Some patients may develop lymphatic and hepatic malignancies, usually as a late complication. MC may be associated with numerous infectious or immunological diseases. When isolated, MC may represent a distinct disease, the so-called 'essential' MC. The etiopathogenesis of MC is not completely understood. Hepatitis C virus (HCV) infection is suggested to play a causative role, with the contribution of genetic and/or environmental factors. Moreover, MC may be associated with other infectious agents or immunological disorders, such as human immunodeficiency virus (HIV) infection or primary Sjogren's syndrome. Diagnosis is based on clinical and laboratory findings. Circulating mixed cryoglobulins, low C4 levels and orthostatic skin purpura are the hallmarks of the disease. Leukocytoclastic vasculitis involving medium- and, more often, small-sized blood vessels is the typical pathological finding, easily detectable by means of skin biopsy of recent vasculitic lesions. Differential diagnoses include a wide range of systemic, infectious and neoplastic disorders, mainly autoimmune hepatitis, Sjogren's syndrome, polyarthritis, and B-cell lymphomas. The first-line treatment of MC should focus on eradication of HCV by combined interferon-ribavirin treatment. Pathogenetic treatments (immunosuppressors, corticosteroids, and/or plasmapheresis) should be tailored to each patient according to the progression and severity of the clinical manifestations. Long-term monitoring is recommended in all MC patients to assure timely diagnosis and treatment of the life-threatening complications. The overall prognosis is poorer in patients with renal disease, liver failure, lymphoproliferative disease and malignancies.

Key words: mixed cryoglobulinemia, etiopathogenesis, diagnosis, treatment.

Clodoveo Ferri: cferri/at/unimo.it Публикуется с разрешения авторизованной Orphanet J Rare Dis 2008; 3: 25.

Название заболевания и синонимы

Смешанная криоглобулинемия (тип II или тип III), криоглобулинемический васкулит.

Определение

Термин «криоглобулинемия» употребляют при обнаружении в сыворотке крови одного (моноклональная криоглобулинемия) или более иммуноглобулинов (смешанная криоглобулинемия), которые преципитируют при температуре ниже 37 °C и распадаются при нагревании выше этой температуры [1, 2]. Данный феномен выявляется *in vitro* (рис. 1). Фактические механизмы криопреципитации остаются малопонятными, они могут быть как вторичными, по отношению к внутренним свойствам моно- и поликлональных иммуноглобулинов, так и быть следствием взаимодействия одиночных компонентов криопреципитата [1–14].

Криоглобулинемию обычно подразделяют на три типа [4] в зависимости от состава Ig (табл. 1): тип I – только один изотип или подкласс иммуноглобулина; типы II и III представляют собой варианты СК, при которых в состав иммунных комплексов входят поликлональные иммуноглобулины G, аутоантигены и моно- или поликлональные IgM соответственно. IgM являются аутоантителами с активностью ревматоидного фактора (РФ) [3–6]. При использовании более чувствительных методов, в том числе иммуноблотинга и 2D электрофореза в полиакриламидном геле, при типе II часто обнаруживают микрогетерогенный состав; в част-

ности, олигоклональные IgM или сочетание поликлональных и моноклональных IgM [3]. Эта особенная серологическая субпопуляция, называемая тип II–III криоглобулинемия, представляет собой некое переходное состояние от типа III к типу II СК. Более того, тип II–III СК может объединить последние молекулярные исследования, демонстрирующие наличие олигоклональной пролиферации В-лимфоцитов в биоптатах печени и костного мозга у пациентов со СК [3]. В двух третях случаев СК типа II выявляют WA перекрестный идиотип моноклонального РФ, первоначально выделенного из сыворотки больных макроглобулинемией Вальденстрема [14].

Тип I криоглобулинемии практически всегда сочетается с хорошо известными гематологическими заболеваниями и часто сам по себе бессимптомен; аналогично, циркулирующие смешанные криоглобулины часто выявляют при различных инфекционных и системных заболеваниях [1–14]. Напротив, «эссенциальная» СК представляет собой вполне определенное заболевание [3–6], которое может быть классифицировано как тип системного васкулита [3–10]. При криоглобулинемическом васкулите (рис. 2) происходит отложение циркулирующих иммунных комплексов, главным образом криоглобулинов, и комплемента в сосудах, с вероятным участием как реологических, так и местных факторов [3–6]. Согласно клиническим и гистологическим характеристикам, СК относят в подгруппу системных васкулитов мелких сосудов,

Таблица 1

Классификация и клиничко-патологическая характеристика различных типов криоглобулинемии

Типы криоглобулинемий	Состав	Морфологические признаки	Клинически ассоциированные состояния
Криоглобулинемия Тип I	Аутоагрегация моноклональных Ig, в основном IgG или IgM, или IgA, через Fc-фрагменты Ig	Гистологическая альтерация тканей - Лейкокластический васкулит - Экспансия В-лимфоцитов с инфильтрацией тканей	- Лимфопролиферативные заболевания: ММ, МВ, ХЛЛ, В-клеточная неходжкинская лимфома
Смешанная криоглобулинемия Тип II	Моноклональные IgM (или IgG, или IgA) с активностью РФ (часто перекрестный идиотип WA-mRF) и поликлональный Ig (в основном IgG)	- Лейкокластический васкулит - Экспансия В-лимфоцитов с инфильтрацией тканей	- Инфекции (в основном HCV) - Аутоиммунные /лимфопролиферативные заболевания - Редко «эссенциальная»
Смешанная криоглобулинемия Тип II–III	Олигоклональный IgM с активностью РФ или сочетание поли/моноклонального IgM (часто перекрестный идиотип WA-mRF)	- Лейкокластический васкулит - Экспансия В-лимфоцитов с инфильтрацией тканей	- Инфекции (в основном HCV) - Аутоиммунные /лимфопролиферативные заболевания - Редко «эссенциальная»
Смешанная криоглобулинемия Тип III	Поликлональная смесь всех изотипов Ig с активностью ревматоидного фактора одного поликлонального компонента (обычно IgM)	Лейкокластический васкулит Экспансия В-лимфоцитов с инфильтрацией тканей	- Инфекции (HCV) - Более часто аутоиммунные заболевания - Редко «эссенциальная»

Лимфопролиферативные заболевания: ММ – множественная миелома; МВ – макроглобулинемия Вальденстрема; ХЛЛ – хронический лимфолейкоз; РФ – ревматоидный фактор; Ig – иммуноглобулин.

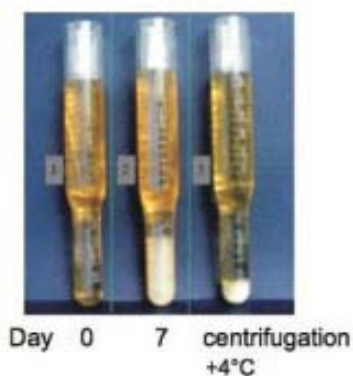


Рис. 1. Определение криокрита у пациента со смешанной криоглобулинемией (СК). Градуированная стеклянная пробирка с образцом сыворотки пациента с криоглобулинемией через различные временные интервалы: 0 – вскоре после отделения сыворотки от цельной крови (необходимо минимум 20 мл крови); 7 – спустя 7 дней при температуре +4 °C и измерение криокрита после центрифугирования сыворотки при температуре +4 °C (модифицировано из: [24], Ferri C et al, Sem arthritis rheum 2004, 33: 355-74).



Рис. 2. Кожные проявления смешанной криоглобулинемии. а – свежие проявления ортостатической пурпуры; на этой стадии гистопатологически (b) обнаруживают некротизирующий лейкоцитарный васкулит, характеризующийся диффузным фибриноидным некрозом, и инфильтрация дезинтегрированными нейтрофилами стенок сосуда; с – симметричная гиперпигментация кожи ног после повторных эпизодов пурпуры; как ортостатическая пурпура, так и подобная стойкая охряная гиперпигментация кожи являются типичными клиническими признаками СК; d – манифестация тяжелого васкулита; e – большая кожная язва, часто резистентная к терапии.

включающего также кожный лейкоцитокластический васкулит и пурпуру Шенляйн–Геноха [3,10].

Лейкоцитокластический васкулит является отличительным гистопатологическим признаком СК (см. рис. 2). В процесс могут вовлекаться сосуды мелкого и среднего диаметра с развитием мультиорганного поражения. Термин «криоглобулинемический васкулит» часто используют как синоним, ориентиру-

ясь на типичные гистопатологические повреждения кожи и внутренних органов [3,10].

Эпидемиология

Распространенность СК значительно различается в разных географических регионах; болезнь чаще встречается в Южной Европе по сравнению с Северной Европой или Северной Америкой [3–13]. СК считают редким заболеванием, однако, адекватных эпидемиологических исследований, касающихся распространенности СК, не проведено до настоящего времени. Принимая во внимание клинический полиморфизм СК, монорганная манифестация (кожный васкулит, гепатит, нефрит, периферическая полинейропатия и т.д.), часто является единственным или преимущественным проявлением, поэтому пациенты, страдающие СК, часто обращаются к различным специалистам (рис. 3). Правильный диагноз может быть поставлен с запозданием или вообще установлен не будет. Это приводит к фактической недооценке заболеваемости СК.

По тем же причинам клинические варианты синдрома СК могут широко различаться среди пациентов, обратившихся за помощью к узким специалистам [3, 6, 8–14] (рис. 3).

Более чем у 50% больных, инфицированных вирусом гепатита С, установлено наличие циркулирующих смешанных криоглобулинов в низком титре, в то время как развернутый криоглобулинемический синдром развивается примерно в 5% слу-

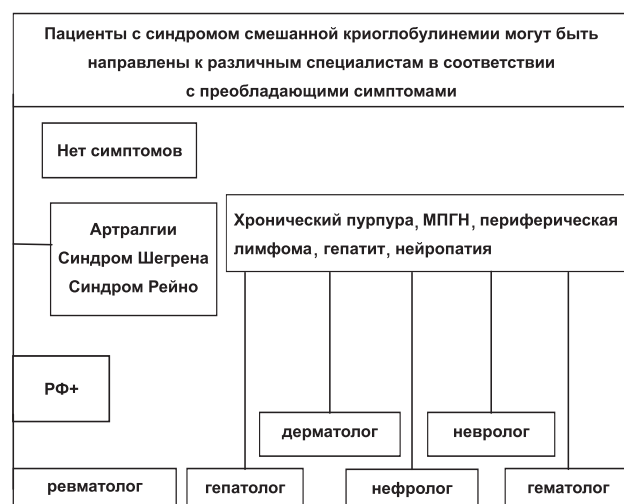


Рис. 3. Обращение больных с СК к различным специалистам. Из-за клинического полиморфизма, присущего СК, она проявляется различными, часто непредсказуемыми симптомами. В результате пациенты с СК обращаются к разным специалистам в соответствии с основным клиническим проявлением, например, мембранозно-пролиферативным гломерулонефритом (МПГН) или кожной пурпурой. Пациенты с достаточно легкими клиническими проявлениями, такими как артралгия и/или наличием в сыворотке РФ, обычно обращаются к ревматологу.

чаев [3, 15, 16]. В результате большой распространенности инфицированности вирусом гепатита С (HCV) можно ожидать увеличение количества случаев СК, ассоциированной с HCV, особенно в развивающихся странах, где эта инфекция встречается достаточно часто [3,17].

Есть основания полагать, что заболеваемость «эссенциальной» СК составляет приблизительно 1:100 000 (с соотношением женщин и мужчин 3:1), однако, этот термин в настоящее время используют только в отношении небольшого числа случаев СК.

Клиническая картина

Согласно первому описанию, синдром СК клинически проявляется триадой: пурпура, слабость, артралгия, а также другими клиническими состояниями, включая хронический гепатит, мембранопролиферативный гломерулонефрит (МПГН), периферическую нейропатию, кожные язвы, диффузный васкулит и, менее часто, неопластические процессы лимфоидной ткани и печени [3–12, 17–23]. Клинические проявления криоглобулинемического васкулита сравнимы у пациентов с типом II и типом III [3]. Частота симптомов СК, представленная в табл. 2, изучена на популяции итальянцев,

Синдром смешанной криоглобулинемии		
Только наличие смешанных криоглобулинов в сыворотке	Смешанные криоглобулины + симптомы синдрома СК	Синдром СК клинически, но без смешанных криоглобулинов в сыворотке
Мониторинг без лечения Возможное предклиническое состояние, связанное с РФ+ и/или низким уровнем комплемента Тщательное клиническое выявление возможных имеющихся инфекционных, аутоиммунных и/или лимфопролиферативных и/или неопластических процессов	Классический синдром СК (криоглобулинемический васкулит), эссенциальный или вторичный, обусловленный инфекционными, аутоиммунными и/или лимфопролиферативными, и/или неопластическими процессами	Отсутствие криопреципитирующих ЦИК Повторные определения криоглобулинов через различные временные промежутки для подтверждения диагноза синдрома СК Исключение иных инфекционных, аутоиммунных и/или лимфопролиферативных и/или неопластических процессов
2	1	3

Рис. 4. Соотношение между выявлением криоглобулинов и развернутым криоглобулинемическим синдромом. (1) Явный СК синдром (или криоглобулинемический васкулит) – комбинация серологических данных (смешанные криоглобулины с активностью ревматоидного фактора и часто низким уровнем С4) и типичных клинико-патологических признаков (пурпура, лейкоцитарный васкулит и часто мультиорганное поражение); см. также табл. 3. Однако в любое время в течении заболевания может наблюдаться неполный СК синдром; (2) изолированные серологические изменения могут определяться на ранних стадиях болезни или при клинической ремиссии; с другой стороны, (3) отсутствие криоглобулинов в сыворотке у пациентов с развернутым СК синдромом может быть преходящим феноменом в результате большой вариативности количества криопреципитирующих иммунных комплексов на протяжении заболевания или, что реже, в результате трансформации доброкачественной В-клеточной пролиферации в злокачественную лимфому.

Таблица 2

Демографические, клинико-серологические и вирусологические характеристики 250 пациентов, страдающих СК на момент окончания наблюдения

Клинический признак	
Возраст в дебюте заболевания, среднее ± стандартное отклонение, (диапазон)	54±13 (29-72)
Соотношение женщины/мужчины	3
Продолжительность болезни, среднее ± стандартное отклонение, (диапазон)	12±10 (1-40)
Пурпура	98%
Слабость	98%
Артралгии	91%
Артрит (неэрозивный)	8%
Синдром Рейно	32%
«Сухой синдром»	
(«сухой» кератоконъюнктивит)	51%
Периферическая нейропатия	81%
Вовлечение почек (МПГН)	31%
Вовлечение печени	73%
В-клеточная неходжкинская лимфома	11%
Гепатоцеллюлярная карцинома	3%
Криокрит, среднее±стандартное отклонение	4,4±12 %
Тип II/ тип III СК	2/1
С3, среднее±стандартное отклонение мг/дл (N=60–130)	93±30
С4, среднее±стандартное отклонение (N=20–55)	10±12
Антинуклеарный фактор	30%
Антимитохондриальные антитела	9%
Антитела к гладкомышечным клеткам	18%
Анти-ENA (антитела к экстрагируемому ядерному антигену)	8%
Анти-HCV ат ± HCV РНК	92%
Anti-HBv ат	32%
HBsAg	1%

обратившихся в отделение ревматологии нашего университета. Отмеченные в литературе симптомы СК достаточно вариативны, что связано с отбором пациентов из разных специализированных центров и различием в их расовой принадлежности [3–10, 14].

Наличие тех или иных симптомов достаточно различается у пациентов с криоглобулинемией. При начальном обследовании СК встречаются различные клинико-серологические варианты, начиная от изолированного наличия в сыворотке смешанных криоглобулинов и заканчивая развернутым криоглобулинемическим синдромом (рис. 4). Последний является комбинацией серологических данных (смешанные криоглобулины с активностью РФ и часто низкий уровень С4) и клинико-патологических признаков (пурпура, лейкоцитокластический васкулит с множественным органным поражением) [6–10, 14, 24, 25]. Асимптоматическое изолированное наличие в сыворотке смешанных криоглобулинов обнаруживают у некоторых людей, инфицированных вирусом гепатита С [3,15,16], что на несколько лет или десятилетий может предше-

ствовать развитию заболевания. С другой стороны – у некоторых пациентов имеет место типичный криоглобулинемический синдром без наличия криоглобулинов в сыворотке, специфического признака болезни (см. рис. 4). Этот феномен обычно имеет транзиторный характер из-за большой вариабельности содержания криопреципитирующих иммунных комплексов [3, 26]. В таких случаях необходимо повторное определение смешанных криоглобулинов.

Поражение кожи – наиболее частое проявление СК [6–10, 14, 24, 25]. Ортостатическая пурпура характеризуется периодичностью появлений, большим разнообразием распространенности и выраженности высыпаний, начиная от спорадических изолированных петехий и заканчивая тяжелым поражением сосудов кожи, часто осложняющимся язвой ног и лодыжечных областей с торпидным течением (см. рис.2). У значительной части пациентов повторяющиеся эпизоды пурпуры могут приводить к появлению на нижних конечностях постоянных, часто сливающихся между собой очагов коричневатой (охряной) окраски (см. рис.2). Кожные проявления, в частности ортостатическая пурпура и язвы, являются прямым последствием васкулита, с возможным влиянием различных ко-факторов, например, хронической венозной недостаточности, физической нагрузки, в основном длительного стояния и/или повышенной влажности в теплое время года. Также нельзя недооценивать влияние реологических нарушений в результате высокого уровня криокрита [27]. В этой связи высыпания чаще всего появляются в конце дня, когда наблюдается наибольший уровень криокрита в сочетании с длительным вертикальным положением [24].

Пациенты с СК обычно жалуются на артралгии, в то время как клинические признаки артрита (как правило, легкого течения, неэрозивного олигоартрита) встречаются относительно реже [11, 12, 25, 28].

Почти половина пациентов предъявляют жалобы на ксеростомию и ксерофтальмию, однако, только незначительное число случаев соответствует критериям первичного синдрома Шегрена (см. «Дифференциальный диагноз») [11, 12, 25].

Периферическая нейропатия может часто осложнять клиническое течение СК, в большинстве случаев в виде сенсорного неврита легкой степени тяжести [24, 25, 29, 30], классическими симптомами которого являются парестезии с болезненными ощущениями и/или ощущениями жжения в области нижних конечностей с усилением в ночное время. Качество жизни пациентов значительно

ухудшается в результате хронизации этих симптомов в совокупности с их плохим ответом на попытки терапии. В небольшом количестве случаев периферическая нейропатия осложняется тяжелым сенсорно-моторным поражением, обычно появляющимся внезапно в виде асимметричного мононеврита; у некоторых, вероятно, предрасположенных пациентов, это может осложнять терапию альфа-интерфероном [29–33]. Изредка сообщается о вовлечении в процесс нервной системы в виде дизартрии и гемиплегии [25, 34], часто бывает достаточно трудно отличить эти симптомы от типичных проявлений атеросклеротического поражения сосудов головного мозга.

Так как в огромном большинстве случаев причиной СК является инфицирование вирусом гепатита С. В том или ином периоде течения заболевания наблюдают клинически явный хронический гепатит, обычно легкой или средней тяжести [24, 25]. Хронический гепатит был обнаружен у большого числа пациентов (см. табл.2), с развитием цирроза – у 1/4, в то время как гепатоцеллюлярной карциномы – только у 7 больных. В небольшом числе случаев, особенно в сочетании с поражением почек, поражение печени становилось угрожающим жизни осложнением. В целом клиническое течение и прогностическое значение этих проявлений представляются менее тяжелыми в сравнении с хроническим гепатитом С без криоглобулинемии [24, 25], аналогично, гепатоцеллюлярная карцинома реже осложняет течение синдрома СК по сравнению со всей популяцией больных хроническим вирусным гепатитом С [24, 25]. Эти различия достаточно интересны, однако труднообъяснимы. Возможно, что легкое употребление алкоголя и/или относительно низкое преобладание генотипа 1b вируса гепатита С объясняют хотя бы частично более благоприятные течение поражения печени и его небольшую прогностическую значимость при СК.

Мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит I типа – другое важное осложнение, которое может серьезно повлиять на прогноз и выживаемость [24, 25, 34–37]. СК-ассоциированная нефропатия – это типичный иммунокомплексно-опосредованный гломерулонефрит, хотя обсуждаются и другие иммунологические механизмы [24, 25, 38, 39].

У небольшого числа пациентов развивается распространенный васкулит, поражающий артерии среднего калибра, капилляры и вены многих органов [3, 6, 10, 24, 25, 40]. Это чрезвычайно тяжелое осложнение может поражать кожу, почки, легкие, центральную нервную систему и желудочно-кишечный тракт. В редких случаях заболевание

может неожиданно осложняться интерстициальным васкулитом, особенно у пациентов с поражением почек и/или печени; при этом характерна боль, симулирующая острый живот. Спасти жизнь пациента в случае этого жизнеугрожающего осложнения могут своевременная диагностика и агрессивная терапия стероидами.

В крайне редких случаях при синдроме СК также, как и у пациентов с инфекцией вирусного гепатита С, описано интестииальное поражение легких [3, 25, 41–43]. Почти всегда легочное поражение характеризуется субклиническим альвеолитом, подтвержденный при бронхоальвеолярным лаважем, проведенного у некоторых пациентов [44]; это состояние может способствовать развитию тяжелых инфекционных поражений, в редких случаях может даже привести к клинически значимому легочному фиброзу. Синдром гипервязкости в результате высокого уровня сывороточных криоглобулинов – другое редкое клиническое проявление СК [27]. Как правило, не обнаруживается связи между тяжестью клинических проявлений, таких как гломерулонефрит, кожные язвы или диффузный васкулит, и уровнем криоглобулинов сыворотки и/или уровня гемолитической активности комплемента [3, 24, 25]. Низкая активность комплемента почти всегда встречается при СК, при этом типичен низкий или неопределяемый уровень С4 и нормальный или относительно нормальный уровень С3, независимо от активности болезни (табл. 2). Кроме того, наблюдается потребление комплемента *in vitro* в результате антикомплемментарной активности некоторых криоглобулинов [3]. Интересно, что внезапное повышение уровня С4 до ненормально высоких значений может наблюдаться у пациентов с СК при развитии В-клеточной лимфомы [45]. Отсутствие взаимосвязи между уровнем циркулирующих криоглобулинов и тяжестью/активностью СК процесса может быть объяснено на основании разных гипотез: патогенетическая роль других некриопреципитирующих иммунных комплексов, присущая им способность активировать комплемент и/или формирование иммунных комплексов *in situ* с относительной концентрацией вирионов гепатита С [3, 14, 24, 25].

Некоторые эндокринные расстройства значительно чаще встречаются у больных криоглобулинемией, чем в общей популяции [3, 12, 13, 24, 25, 46–50]. Наиболее частая патология щитовидной железы включает: аутоиммунный тиреоидит, субклинический гипотиреозидизм, рак щитовидной железы, в то время как гипертиреозидизм встречается менее часто, в основном как обратимое осложнение терапии интерфероном [51–54]. Более того,

у больных с положительными маркерами гепатита С с и без СК отмечается статистически значимое повышение частоты встречаемости сахарного диабета по сравнению с общей популяцией [55–57]. Наконец, у HCV-положительных мужчин с или без СК может развиваться эректильная дисфункция, связанная с гормональными и/или нейроваскулярными нарушениями [49].

В-клеточная лимфома – наиболее частое неопластическое осложнение СК, в основном как поздняя манифестация СК-синдрома [58–65]. Это осложнение может быть связано с периферической экспансией В-лимфоцитов и лимфоидной инфильтрацией, наблюдаемой в печени и костном мозге у пациентов с СК [19, 39, 58, 59]. Некоторые авторы рассматривают эти инфильтраты, в частности, как «ранние лимфомы», так как они состоят из лимфоидных компонентов, неотличимых от таковых при В-клеточном хроническом лимфолейкозе/малой лимфоклеточной лимфоме и иммуноцитоме [3, 12, 25, 59]. Однако, в отличие от явных злокачественных лимфом, они имеют тенденцию оставаться неизменными в течение лет и даже десятилетий и трансформируются в типичные лимфоидные опухоли приблизительно в 10% случаев [3]. Эти характеристики позволили предложить термин «монотипичное лимфопролиферативное расстройство неопределенного значения» (MLDUS) [3, 12, 25, 59]. Примечателен факт, что MLDUS, ассоциированное с СК типом II, наиболее часто встречается в тех же географических областях, где примерно 30% пациентов с «идиопатической» В-клеточной лимфомой являются HCV-положительными с преимущественным генотипом вируса гепатита С 2a/c, как при лимфоме, так и при СК [3, 12, 25, 59]. MLDUS при типе II СК представлен двумя основными патологическими вариантами, называемыми В-ХЛЛ-подобным и иммуноцитомой-подобным вариантами [3, 12, 25, 59]. В клинической практике нередко, иногда довольно неожиданно, при рутинном обследовании, наблюдают появление злокачественной В-клеточной лимфомы у больных с легким течением СК. При этом возможно внезапное падение или исчезновение криоглобулинов и РФ в сыворотке, иногда в сочетании с ненормально высоким уровнем С4, как проявление В-клеточного озлокачествления [40].

Другие неопластические процессы, как гепатоцеллюлярный рак или папиллярный рак щитовидной железы, встречаются реже [3, 11, 24, 50, 59]. В этом свете СК может рассматриваться как пренеопластический процесс [61], поэтому рекомендуют тщательное клиническое наблюдение, даже в случае легко протекающего СК-синдрома [3, 11].

Этиопатогенез

Со времени первого описания синдрома СК [5] сообщается, что хронический гепатит является частым проявлением заболевания [3–6, 11, 24]; поэтому в патогенезе болезни довольно давно предполагается возможная роль гепатотропных вирусов [3,12]. Сначала была исследована роль вируса гепатита В [66], однако, виремия при этом гепатите регистрируется редко, в то время как анти-HBV-антитела значительно варьировали среди популяции больных с СК [3]. Можно утверждать, что вирус гепатита В является причинным фактором СК менее чем в 5% случаев (рис. 5).

Вскоре после открытия HCV, как главного этиологического агента ни-А-ни-В хронического гепатита [67], два независимых автора предположили возможную роль HCV [68, 69], показав значительное преобладание в сыворотке больных с СК анти-HCV-антител по сравнению с основной популяцией. Эта гипотеза была окончательно подтверждена в 1991 году, когда с помощью ПЦР в крови 86% итальянских больных с СК выявили РНК вируса гепатита С [70]. Затем огромное число исследований, включая клинико-эпидемиологические наблюдения, так же как и гистопатологические и вирусологические исследования (определение РНК HCV и/или *in situ* гибридизация), убедительно подтвердили главенствующую роль HCV в патогенезе СК [8–14, 21, 25, 59, 71–76]. Распространенность в сыворотке пациентов с СК анти-HCV-антител и/или РНК варьировало от 70 до почти 100% в различных популяциях пациентов [3, 11–13, 25]. Учитывая жесткую связь между СК и вирусом гепатита С, термин «эссенциальная» СК теперь применяется лишь для незначительного числа пациентов с СК (в Италии менее 5%, см. рис.5) [3, 11–13, 25].

Смешанная криоглобулинемия				
1	2	3	4	5
Эссенциальная смешанная криоглобулинемия	И АЛС		Смешанная криоглобулинемия	Смешанная криоглобулинемия
?			Вирус гепатита С	Вирус гепатита В и другие вирусы
Пусковые факторы				

Рис. 5. Схематичное представление различных клинических и вирусологических причин СК. 1) «эссенциальная» СК; 2) и 3) «эссенциальная» СК и СК-синдром, ассоциированный с HCV при установленных аутоиммунно-лимфопрлиферативных расстройствах (АЛР), таких как аутоиммунный гепатит, синдром Шегрена и В-клеточная лимфома; 4) наиболее часто встречающийся HCV- ассоциированный СК-синдром; 5) СК, связанная с другими инфекционными агентами, например, вирусом гепатита В (модифицировано из [12,13]: Ferri C et al, B-cells and mixed cryoglobulinemia. Autoimm Rev 2007, 7: 114–20; Mascia MT et al, Non HCV-related mixed cryoglobulinemia. Dig Liver Dis 2007, 39: S61–4).

В связи с частой ассоциацией между СК и HCV, течение СК тесно связано с естественным течением хронической HCV-инфекции [3, 11–13, 24, 25]. Однако СК также может быть результатом одновременного воздействия генетических и/или экологических факторов, остающихся пока в основном неизвестными (рис. 6). Вирус гепатита С является гепато- и лимфотропным, о чем свидетельствует наличие активной или латентной вирусной репликации в периферических лимфоцитах у больных с гепатитом С или СК [3, 73, 77]. HCV – РНК-содержащий вирус без активности обратной транскриптазы, вот почему геном вируса не может встроиться в геном хозяина [63]. Вероятно, HCV хронически стимулирует иммунную систему посредством различных протеинов, таких как ядерные белки [9, 22, 63]. Идея о хронической стимуляции лимфатической системы через эпитопы вируса, аутоантигенную продукцию и/или механизмы молекулярной мимикрии была высказана на основании наличия у HCV-позитивных больных анти-GOR-антител, которые перекрестно реагируют как с HCV core-антигенами, так и с ядерным антигеном, называемым GOR [3, 59, 63]. Другие авторы предполагают, что HCV в ассоциации с липопротеинами очень низкой плотности (ЛПОНП) могут индуцировать Т-независимую первичную популяцию В-лимфоцитов, продуцирующих моноклональные иммуноглобулины с WA идиотипом [14]. В свою очередь, комплекс HCV–ЛПОНП может запускать продукцию РФ в результате соматической мутаций WA клонов; возможная эволюция В-клеточной лимфомы может быть последствием накопления случайных генетических aberrаций [59]. Хроническая стимуляция В-клеток эпитопами HCV может вызывать экспансию какой-либо субпопуляции В-клеток с благоприятными и/или доминантными генетическими характеристиками. Эта гипотеза перекликается с патогенетической ролью *Helicobacter pylori* в развитии MALT-лимфомы желудка, для которой характерны различные фазы развития [59].

Другим важным патогенетическим фактором является взаимодействие между белком E2 HCV и CD81, широко представленным на поверхности В-клеток тетраспаннином [78]; в результате чего может возникать достаточно сильная поликлональная стимуляция В-клеток (рис. 6). Следующим шагом в патогенезе HCV-опосредованного аутоиммунного лимфопрлиферативного заболевания может быть t [14,18]-транслокация, обнаруживаемая в В-клетках людей, инфицированных HCV [63,79]. Даже убедительно не подтвержденная транслокация [14,18] может приводить к ненор-

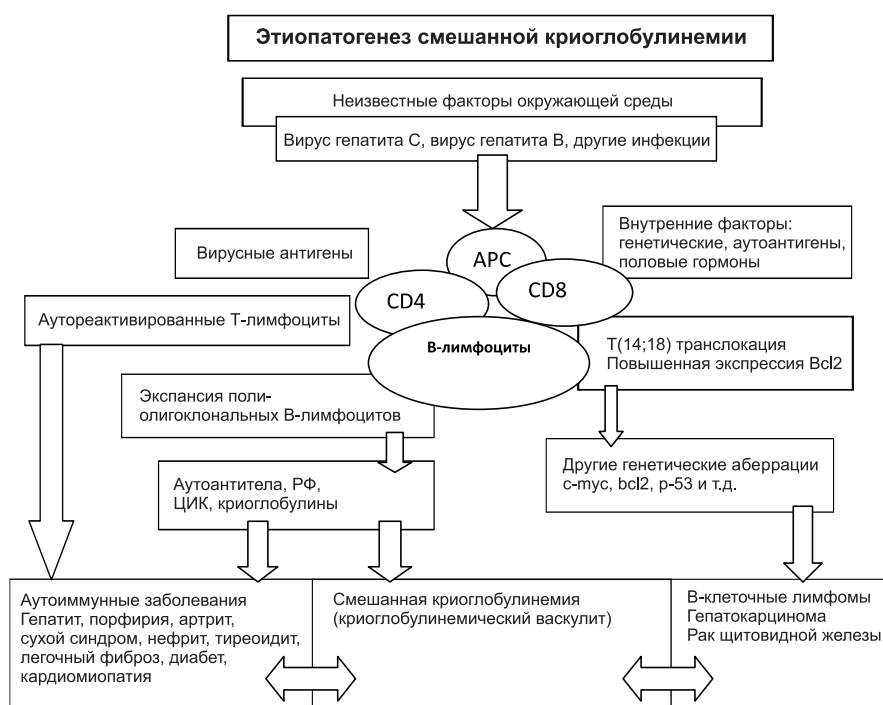


Рис. 6. Этиопатогенез синдрома СК. Схема суммирует этиопатогенетический каскад СК и других расстройств, ассоциированных с вирусом гепатита С. Вероятно, это многофакторный и многоэтапный процесс: отдаленными факторами являются некие инфекционные агенты, в основном HCV, предрасполагающие факторы организма хозяина и возможные неизвестные экологические/токсические пусковые факторы. Вирусные антигены (например, HCV core, E2, NS3, NS4, NS5a белки оболочки) вызывают постоянный стимул иммунной системы организма хозяина посредством специфических рецепторов к лимфоцитам, таких как CD81, который может взаимодействовать с вирусным белком E2. Предрасполагающие внутренние факторы могут включать вариант HLA-аллеля, метаболические и гормональные особенности. Основное последствие – «доброкачественная» пролиферация В-клеток с продукцией разнообразных аутоантител, среди которых РФ, крио- и некриопреципитирующие иммунные комплексы. Эти серологические нарушения могут быть связаны с различными аутоиммунными органо- и неоргано-специфическими расстройствами, включая СК (криоглобулинемический васкулит). Более того, активация Bcl2 протоонкогена, ответственного за продолжительность жизни В-лимфоцита, может спровоцировать последующие генетические aberrации, которые приводят к истинной В-клеточной лимфоме и другим злокачественным новообразованиям. Неопластические процессы наблюдаются у небольшой, но значительной части пациентов, как правило, как позднее осложнение. Как иммунологические, так и неопластические расстройства имеют клинико-серологические и патологические совпадения. Часто аутоиммунная органоспецифическая манифестация может переходить в системный процесс и, реже, в злокачественное новообразование. Наоборот, нередко у пациентов со злокачественными новообразованиями развиваются аутоиммунные расстройства. В этом случае СК является перекрестком аутоиммунных и неопластических процессов (модифицировано из [11,12]: Ferri C et al, HCV-related autoimmune and neoplastic disorders: the HCV immune. Dig Liver Dis 2007, 39: S13–21; Ferri C et al, B-cells and mixed cryoglobulinemia. Autoimm Rev 2007, 7: 114–20).

мально высокой экспрессии Bcl-2 белка, с последующим подавлением апоптоза и ненормально долгой жизнью В-клеток. Интересно, что распространенность t [14,18]-транслокации у пациентов только с гепатитом С (примерно 37–38%) становится особенно высокой у пациентов с HCV-опосредованной криоглобулинемией, достигая 85% при II типе СК [63]. Можно предположить, что при хронической HCV-инфекции несколько факторов (включая взаимодействие между белком E2 HCV и молекулой CD81, высокую вариабельность вируса, персистенцию инфекции в гепатоцитах и

лимфоцитах) способствуют поддержанию стойкой активации В-клеток (см. рис.6). Это, в свою очередь, вызывает появление t [14,18]-транслокации и чрезмерную экспрессию Bcl-24; последующая экспансия В-лимфоцитов ответственна за продукцию аутоантител, включая криоглобулины [3, 11, 12, 63, 77–79]. Кроме того, удлинение жизни В-клеток может стать предрасполагающим фактором для дальнейших генетических aberrаций, которые приводят к истинной В-клеточной малигнизации, как позднему осложнению СК-синдрома [11, 20, 24, 82].

Интересно, что HCV-индуцированная лимфопролиферация может объяснить патогенетическую роль HCV также в развитии «идиопатической» В-клеточной лимфомы [11, 59, 64, 65, 80]. Эта взаимосвязь была впервые описана у итальянских пациентов с «идиопатической» В-клеточной лимфомой [64] и успешно подтверждена различными эпидемиологическими и лабораторными исследованиями, в основном в тех же географических регионах, где распространена HCV-ассоциированная СК [65].

Благодаря своим биологическим характеристикам, HCV может быть вовлечен в большое число аутоиммунных и лимфопролиферативных заболеваний [3, 11, 12, 63, 77–79].

Рис. 6 суммирует основные причинные факторы: инфекционные, токсические, генетические и/или экологические факторы, которые потенциально участвуют в патогенезе СК [11, 12, 79, 82–82]. Эти факторы, самостоятельно или в комбинации, могут запускать два многоэтапных, не исключаящих друг друга процесса, ответственных за развитие СК или других HCV-ассоциированных расстройств. Результатом первого процесса является «доброкачественная» поли-олигоклональная В-лимфоцитарная пролиферация, ответственная за органо- и не органоспецифические аутоиммунные поврежде-

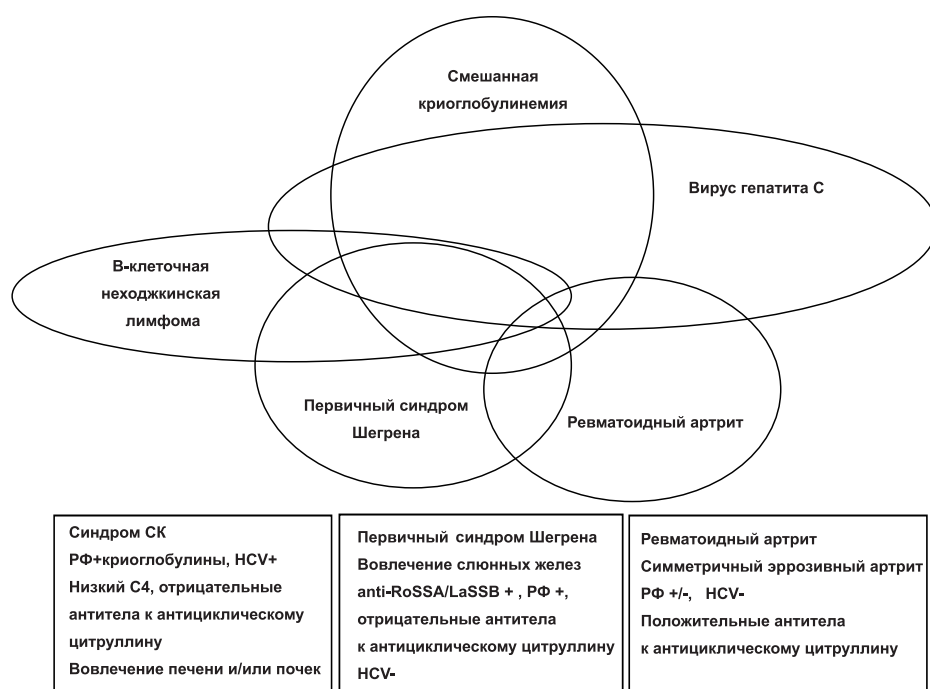


Рис. 7. Дифференциальный диагноз между смешанной криоглобулинемией и другими аутоиммунными и лимфопролиферативными заболеваниями при инфекции вируса гепатита С. Смешанная криоглобулинемия (MC), первичный синдром Шегрена (pSS), ревматоидный артрит (RA) имеют клинко-патологический перекрест, включая возможную связь с HCV-инфекцией. Следующие параметры могут быть успешно применены для правильной дифференциальной диагностики: для первичного синдрома Шегрена типичны гистопатологические изменения в слюнных железах и специфические аутоантитела (anti-RoSSA/LaSSB), которые редко встречаются у больных с СК; напротив, кожный лейкокластический васкулит, поражающий многие органы (гломерулонефрит, гепатит), низкий С4, инфекция HCV типичны для СК. Эрозивный симметричный полиартрит и специфические антитела сыворотки (anti-CCP - антитела к антициклическому цитруллинированному пептиду) характеризуют классический ревматоидный артрит. Наконец, В-клеточная неходжкинская лимфома может осложнять эти заболевания и наиболее часто СК и синдром Шегрена. Появление В-неходжкинской лимфомы может быть своевременно заподозрено при тщательном клинко-серологическом мониторинге и диагностировано при биопсии лимфатического узла или стеральной пункции, а также при компьютерной томографии всего тела (модифицировано из [25]. Ferri C and Mascia MT, Curr Opin Rheumatol 2006, 18: 54–63, with permission from Lippincott Williams & Wilkins).

ния, включая иммунокомплексный криоглобулинемический васкулит; второй процесс характеризуется различным онкогенетическим нарушением, что неизбежно может завершиться озлокачиванием [11, 82]. В случае смешанной криоглобулинемии без HCV можно предположить сходные патогенетические механизмы, связанные с другими инфекционными агентами или с некоторыми хорошо известными аутоиммунными/ревматическими или лимфопролиферативными расстройствами (см. рис. 5, 6) [13]. Повреждение ткани, вызванное Th1, вероятно вызывает ряд эндокринных расстройств, например, сахарный диабет тип 2 и дисфункцию щитовидной железы, особенно у пациентов с HCV-ассоциированной СК [57]. Наши предыдущие исследования предполагают, что HCV-инфекция тиреоцитов и β -клеток нарушает регуляцию экспрессии и секреции гена CXCL10 (как это показано в гепатоцитах человека); последующий приток Th1-

лимфоцитов, которые секретируют ИФ- γ и ФНО- α , в свою очередь вызывают секрецию CXCL10 инфицированными клетками, и таким образом развивается иммунный каскад, заканчивающийся указанными эндокринными нарушениями. Все перечисленные патогенетические механизмы могут быть предложены и для больных с HCV-негативной СК. В этом случае могут иметь значение различные инфекционные агенты и/или хорошо известные аутоиммунные/ревматические или лимфопролиферативные заболевания (см. рис. 6) [13].

СК с развернутой клинической картиной или без нее чрезвычайно редко отмечают у пациентов с различными инфекциями [9]. Довольно большая распространенность СК отмечается у больных с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) с или без HCV-коинфекции [85]. ВИЧ сам может вызывать постоянную антигенную стимуляцию В-лимфоцитов, в результате чего может разви-

ваться СК тип III на ранних этапах ВИЧ-инфекции. У некоторых больных В-клеточные расстройства могут приводить к типичному клиническому синдрому моноклональной СК. При HCV-инфекции распространенность других вирус-опосредованных СК оказывается различной среди групп пациентов разных географических зон [86]. Более того, ряд клинко-эпидемиологических исследований выявили гетерогенность встречаемости различных HCV-обусловленных экстрапеченочных манифестаций, включая некоторые аутоиммунные расстройства, такие как первичный синдром Шегрена [87–98].

Криоглобулинемический синдром может включать ряд этиопатогенетических и клинических характеристик, наблюдаемых как при аутоиммунных заболеваниях (таких как аутоиммунный гепатит, синдром Шегрена, полиартрит), так и при В-клеточной лимфоме [3, 11, 12, 25, 28, 85–100]. Вот почему у всех больных с СК необходима тщатель-

Критерии, предлагаемые для классификации смешанной криоглобулинемии (СК)

Критерии	Серологический	Патоморфологический	Клинический
Большие	Смешанные криоглобулины, низкий уровень С4	Лейоцитокластический васкулит	Пурпура
Малые	Ревматоидный фактор +HCV+HBV+	Клональные В-клеточные инфильтраты (печень и/или костный мозг)	Хронический гепатит МПГН, периферическая нейропатия, кожные язвы

Определенный синдром СК: а) смешанные криоглобулины в сыворотке ($\pm$ низкий уровень С4) + пурпура + лейкокластический васкулит; в) смешанные криоглобулины в сыворотке ($\pm$ низкий уровень С4) + 2 малых клинических симптома + 2 малых серологических/патоморфологических критерия. Эссенциальная или вторичная криоглобулинемия: отсутствие или присутствие какого-либо процесса (инфекционного, аутоиммунного, неопластического) (HCV+ или HBV+: маркеры инфекции гепатита С или гепатита В (анти HCV $\pm$ HCV-RНК; HBV ДНК или HBsAg); МПГН – мембранопролиферативный гломерулонефрит).

ная дифференциальная диагностика (рис. 7, также см. «Дифференциальный диагноз»); правильная классификация болезни может решительно повлиять на клинко-терапевтический подход и прогноз.

Диагностические методы

Четких критериев диагностики СК не существует; в 1989 г. итальянская группа по изучению криоглобулинемии предложила предварительные критерии классификации СК [101]. Успешно была предложена пересмотренная версия этих критериев (табл. 3), включающая клинко-патологические и вирусологические данные [3]. Циркулирующие смешанные криоглобулины, низкий уровень С4 и ортостатическая пурпура – основные черты заболевания; кроме того, типичным патологическим проявлением поражения тканей является лейкоцитокластический васкулит, поражающий сосуды среднего и более часто мелкого калибра (артериолы, капилляры, вены). Он легко диагностируется при биопсии кожи в месте свежих высыпаний (в пределах первых 24–48 ч) [3, 11, 12, 25].

Для правильной классификации синдрома СК необходимо определение смешанных криоглобулинов сыворотки (IgG–IgM) (см. табл.3, рис.1). К сожалению, не существует общепринятого метода измерения криоглобулинов, но простого стандартизированного определения часто достаточно для определения криоглобулинемии [3, 9, 23]. Так как криоглобулины обладают высокой температурной нестабильностью, исследование криопреципитата иммуноглобулинов нужно проводить немедленно, в месте забора крови. Для точного выявления криоглобулинов сыворотки необходимо избегать ложноотрицательного результата в результате холодовой преципитации иммуноглобулинов даже при комнатной температуре. В этих целях первый этап

Таблица 3 (забор крови, образование сгустка и центрифугирование сыворотки) всегда проводят при температуре 37°C, а определение криокрита и состав криоглобулинов при температуре 4°C (спустя 7 дней). Сыворотка с криоглобулинами должна быть проверена на обратимость преципитата при нагревании до 37°C в течение 24 ч. Кроме того, определение криокрита (процент криоглобулинов от общей сыворотки после центрифугирования при +4°C; см. рис.1) выполняют без антикоагулянтов для избежания ложноположительного результата при образовании

криофибриногена или гепарин-преципитирующих белков. Без вышеописанных предосторожностей может быть неверным не только количественное, но и качественное определение криоглобулинов.

После отделения и отмывания криопреципитата состав криоглобулинов определяют с помощью иммуноэлектрофореза или иммунофиксации. Эти исследования необходимо выполнять при температуре 37°C, чтобы избежать преципитации и тем самым потери криоглобулинов во время процедуры. Для лабораторных исследований могут быть использованы также такие более сложные методы, как иммуноблоттинг и электрофорез в полиакриламидном геле [102–104]. Несмотря на то, что для диагностики смешанной криоглобулинемии необходимо наличие криоглобулинов в сыворотке, их уровень, как правило, не коррелирует с тяжестью течения заболевания и прогнозом [3, 11, 12, 24, 25]. Уровень криокрита настолько низкий, что его трудно определить, может быть при тяжелом и/или активном криоглобулинемическом синдроме; в то же время высокий криокрит может характеризовать легкое или асимптоматическое течение болезни. В редких случаях очень высокий уровень криокрита, вероятно связанный с криогель-феноменом, может быть ассоциирован с классическим синдромом гипервязкости [24, 25, 27]. Напротив, внезапное снижение или исчезновение криоглобулинов из сыворотки при ненормально высоком уровне С4 или без него может рассматриваться как предупреждающий сигнал развития малигнизации В-клеток [45].

В табл. 4 суммированы клинко-серологические данные для первичной оценки впервые выявленных случаев заболевания, которые позволяют верно классифицировать СК-синдром и выявить возможные перекрестные состояния и/или сопутствующие

Таблица 4

Клинико-диагностическая оценка синдрома смешанной криоглобулинемии**Клинические и серологические данные для первичной оценки**

Анамнез, физикальный осмотр
Рентгенография органов грудной клетки, ЭКГ, УЗИ органов брюшной полости. Биохимический анализ крови, общий анализ мочи
Определение и характеристика криоглобулинов (см. табл.1)
РФ, СЗ, С4, АНФ, анти-ENA (антитела к экстрагируемому ядерному антигену), ANCA (антинейтрофильные цитоплазматические антитела), ASMA (антитела к гладким мышцам), AMA (антимитохондриальные антитела), anti-LKM1 (антитела к микросомам печени и почек типа I), другие аутоантитела
Вирусологические маркеры: HCV (генотип), HBV, другие
Сопутствующие состояния (сердечно-сосудистые, эндокринные, метаболические расстройства и т.д.)
Классификация СК (наличие синдрома СС, эссенциальная, вторичная; см. табл.3)

Диагностика и мониторинг основных осложнений СК

Хронический гепатит, цирроз, гепатоцеллюлярная карцинома: мониторинг каждые 6–12 мес. АЛТ, ЩФ, УЗИ печени (биопсия, компьютерная томография (КТ))
Гломерулонефрит: контроль общего анализа мочи и креатинина сыворотки (УЗИ, биопсия)
Периферическая нейропатия: клиническое наблюдение, электромиография
Кожные язвы: исключение язв сосудистого генеза (доплерография артерий и вен)
Сухой синдром: дифференциальный диагноз с первичным синдромом Шегрена (см. рис. 7)
Артрит: дифференциальный диагноз с ревматоидным артритом (см. рис. 7)
Поражение щитовидной железы: гормоны, аутоантитела, УЗИ шеи, аспирационная диагностическая пункция
В-клеточная лимфома: клинический мониторинг биопсии лимфатического узла или костного мозга, тотальная КТ

ющие процессы (см. следующий раздел). Распространенность последних, в частности атеросклероза, может коррелировать как с течением заболевания, так и кумулятивными побочными эффектами длительного лечения. Диагностика и мониторинг основных проявлений смешанной криоглобулинемии необходимы для своевременного лечения, особенно в случае развития жизнеугрожающих осложнений со стороны печени, почек и/или неопластического процесса [3, 11, 12, 24, 25].

Дифференциальный диагноз

Первоначально термин «эссенциальная» криоглобулинемия относили к самостоятельному заболеванию, когда другие известные системные, инфекционные и неопластические процессы были исключены по итогам обширного клинико-серологического исследования [5]. Однако у некоторых пациентов точная диагностика может быть затруднена из-за клинического полиморфизма заболевания. Кроме того, ассоциация СК с хроническим гепатитом С в дальнейшем может осложнять дифференциальную диагностику с другими иммунологическими расстройствами, связанными с HCV, которые зачастую сочетаются в клинической картине за-

болевания. Криоглобулинемический синдром может представлять перекресток ряда аутоиммунных заболеваний (аутоиммунный гепатит, синдром Шегрена, полиартрит, гломерулонефрит, тиреоидит, сахарный диабет II типа и т.д.) и неопластических процессов (В-клеточная лимфома, гепатоцеллюлярная карцинома) [3, 11, 12, 25, 28, 87–98]. У одного пациента возможно медленное прогрессирование от легко текущего HCV-ассоциированного гепатита до различных внепеченочных проявлений (артралгия, сухой синдром, феномен Рейно, положительный РФ и т.д.), с развитием в конечном счете синдрома смешанной криоглобулинемии с типичными клинико-серологическими характеристиками. Только у незначительного числа пациентов развивается злокачественное новообразование после длительного периода наблюдения [3, 11, 12, 24, 25]. Вот почему для верной диагностики синдрома СК необходима тщательная оценка статуса пациента, особенно при наличии системных ревматических заболеваниями с положительным РФ (ревматоидный артрит, первичный синдром Шегрена; рис. 7).

Хотя артралгия является наиболее частым симптомом, признаки синовита встречаются довольно редко. Обычно у пациентов имеет место легкий неэрозивный олигоартрит [28, 90], который часто можно купировать небольшими дозами кортикостероидов с возможным сочетанием с гидроксихлорином. Напротив, ревматоидно-подобный полиартрит чаще встречается у пациентов с гепатитом С без синдрома СК [28]. У пациентов с СК, ассоциированной с гепатитом С и симметричным эрозивным полиартритом, возможно сочетание СК и РА. В этих случаях в качестве диагностического подхода может оказаться полезным определение антител к антициклическому цитруллинированному пептиду, который является маркером классического РА [91, 92].

Почти у половины больных имеются признаки сухого синдрома, однако только у немногих может быть диагностирован первичный синдром Шегрена (ПСШ) согласно принятым критериям. При СК, как и при ПСШ, могут наблюдаться такие симптомы, как ксеростомия и/или ксерофтальмия, артралгия, пурпура, РФ и сывороточные криоглобулины; возможное осложнение – развитие В-клеточной лимфомы [3, 11, 12, 25, 87, 93–98]. Однако в огромном большинстве случаев для точного диагноза достаточны тщательный клинический анализ данных и гистопатоморфология слюнных желез. Специфические аутоантитела (анти-RoSSA/LaSSB), наблюдаемые при ПСШ, редко находят при СК; в то время как HCV-инфекция, кожный лей-



Рис. 8. Лечение синдрома смешанной криоглобулинемии согласно этиопатогенезу заболевания. Смешанная криоглобулинемия является результатом многоэтапного процесса, включающего три основных клинко-патологических уровня: 1) хроническая вирусная инфекция гепатита С; 2) В-клеточная пролиферация; 3) иммунокомплексно-опосредованный васкулит (криоглобулинемический васкулит). Следуя поэтапно от инфекции HCV до развернутого СК-синдрома, лечение может быть различно на разных уровнях и включать этиологические, патогенетические, симптоматические средства.

коклатический васкулит и вовлечение внутренних органов (печень, почки) редко встречаются при первичном синдроме Шегрена (см. рис.7). Основываясь на вышесказанном, недавно было предложено считать наличие хронической вирусной инфекции гепатита С критерием исключения при диагностике первичного синдрома Шегрена [99, 100]. В тех редких случаях, когда дифференциальный диагноз представляет большие трудности, в частности у HCV-негативных пациентов, корректно будет классифицировать заболевание как перекрестный синдром. Однако у пациентов с перекрестным синдромом СК/ПСШ часто отмечаются более тяжелое течение и худший прогноз; у них выявляется низкий уровень анти- RoSSA/LaSSB наряду с высокой распространенностью СК, гипокплементемией, системной манифестацией аутоиммунного процесса и осложнением в виде лимфомы [94, 97, 98]. В клинической практике подобное состояние целесообразно рассматривать как васкулит с соответствующим ведением больного в плане терапии и мониторинга [11, 24, 25].

Наконец, аутоиммунный гепатит, ранее называвшийся «люпоидным» гепатитом, может сочетаться с HCV-инфекцией, в основном в тех странах, где наиболее распространена HCV-ассоциированная СК [88]. Кроме того, при нем могут наблюдаться те же, что и при MC, внепеченочные симптомы, включая сывороточные смешанные криоглобулины [89]. Дифференциальный диагноз в

этом случае может быть проблематичен: необходимо принимать во внимание типичные признаки смешанной криоглобулинемии (лейкоцитокластический васкулит, гипокплементемия, гломерулонефрит), так же как и наличие в сыворотке антител, часто выявляемых при аутоиммунном гепатите (антитела к гладким мышцам).

Терапия

Учитывая комплексный этиопатогенез и клинический полиморфизм смешанной криоглобулинемии, лечение этого заболевания представляет сложную задачу. Для правильного терапевтического подхода необходимо учитывать три важных фактора (см. рис.6): наличие HCV-инфекции, наличие аутоиммунного заболевания, возможные неопластические осложнения [3, 25]. Соответственно трем основным ступеням этиопатогенеза – от HCV инфекции к В-клеточной пролиферации и, в конце концов, к криоглобулинемическому васкулиту (рис.8), лечение заболевания должно проводиться на разных уровнях, включая этиологическую, патогенетическую и симптоматическую терапию. Так как наличие HCV-инфекции рассматривается как основной этиологический фактор, вызывающий хроническую стимуляцию иммунной системы [3, 8–12, 14, 24], во всех случаях HCV-ассоциированной СК должна быть предпринята попытка эрадикационной терапии альфа-интерфероном [3, 11, 12, 24, 105–109]. Однако положительный эффект этого препарата часто является временным и нередко сопровождается развитием таких иммуноопосредованных побочных эффектов, как сенсорно-моторная нейропатия, тиреоидит, ревматоидноподобный полиартрит [51–54]. Возможно, что у предрасположенных пациентов альфа-интерферон, являющийся как противовирусным, так и иммуномодулирующим агентом, может вызвать или усугубить некоторые предсуществующие симптомы, часто субклинические. К сожалению, предсказать эти грозные осложнения невозможно; поэтому терапия интерфероном не должна назначаться, по крайней мере, пациентам с клинически явной периферической нейропатией. В целом, применение терапии альфа-интерфероном у больных со смешанной криоглобулинемией ограничено её невысокой эффективностью и частыми побочными эффектами. Сочетание альфа-интерферона и рибавирина позволяет добиться эрадикации вируса гепатита С у большинства пациентов, хотя долгосрочный эффект непостоянен и часто непредсказуем [3, 11, 12, 24, 105–114]. После тщательной оценки противопоказаний и/или возможных побочных эффектов у пациентов с преобладанием в клинической карти-

Подходы к терапии смешанной криоглобулинемии	
Асимптоматическое течение	Наблюдение
Легкое течение Пурпура Слабость Артралгии, сенсорная нейропатия легкой степени	Низкие дозы стероидов +/- диета с малой антигенной нагрузкой +/- другая симптоматическая терапия (интерферон+рибавирин?)
Среднетяжелое течение Активный гепатит Гломерулонефрит Кожный васкулит	Интерферон+рибавирин, низкие или средние дозы кортикостероидов
Тяжелое или быстро прогрессирующее течение Гломерулонефрит Распространенный васкулит Сенсорно-моторная нейропатия	Плазмаферез + кортикостероиды+ циклофосфан (или ритуксимаб)
Вторичное или комбинированное лечение	
Тяжелое течение с высокой активностью Гломерулонефрит Кожные язвы Сенсорно-моторная нейропатия Распространенный васкулит	Ритуксимаб → интерферон+рибавирин
Активный хронический гепатит Минимальные проявления синдрома СК	Интерферон+рибавирин → ритуксимаб

Рис. 9. Терапевтическая стратегия согласно активности/тяжести криоглобулинемического синдрома. Терапевтическая стратегия в лечении синдрома смешанной криоглобулинемии (или криоглобулинемического васкулита) должна основываться на активности/тяжести клинических симптомов и быть подобрана индивидуально для каждого пациента: при асимптомном течении часто достаточен тщательный мониторинг; при заболевании средней и тяжелой тяжести, как правило, при наличии активного хронического гепатита С, необходимо предпринять попытку эрадикации вируса; при особенно тяжелом течении, быстро прогрессирующих осложнениях необходимо лечение более агрессивными средствами, применяемыми при других системных васкулитах. Схемы последующего лечения применяют в случае особенно тяжелого течения и/или частичного ответа (клинического, патологического, вирусологического). См. также рис.8 и 10.

не признаков хронического гепатита должна быть применена стандартная схема лечения рибавирином и интерфероном [111] (рис. 9, 10). Контролируемые клинические исследования должны установить действительную пользу противовирусной терапии СК, ассоциированной с HCV, и лучше оценить прогностическое значение маркеров ответа на терапию (HCV-генотип, HLA-генотип?). Есть надежда, что, в связи с развитием молекулярной биологии, скоро станет доступной вакцина против вируса гепатита С. Применение вакцины [115] в сочетании с рекомбинантным белком HCV возможно сможет позволить предотвратить прогрессирование вирусной инфекции у HCV-инфицированных пациентов и, возможно, прервать самовозобновляющийся аутоиммунный механизм, приводящий к развитию синдрома СК.

Для пациентов, страдающих «эссенциальной» СК, иммуносупрессивная терапия в виде циклофосфамида или ритуксимаба до сих пор является терапией первой линии (см. рис. 9, 10). В случае HCV-ассоциированной СК необходимо решить вопрос о применении иммуномодулирующей/ иммуносупрессивной терапии, особенно у пациентов с тяжелыми осложнениями. Эта терапия включает стероиды, диету с малой антигенной нагрузкой, плазмаферез и иммуносупрессанты [3, 11, 12, 24, 116–122]. В частности, как с помощью традиционного плазмафереза, так и плазмафереза с двойной фильтрацией, можно значительно сократить уро-

вень циркулирующих иммунных комплексов, особенно криоглобулинов [24, 121, 122]. Применение циклофосфамида *per os* (50-100 мг/сут в течение 2–6 нед) в сочетании с постепенным сокращением частоты плазмафереза может усилить положительный эффект последнего; более того, это может предотвратить феномен рикошета после прекращения плазмафереза [24]. Плазмаферез особенно эффективен в случае развития таких тяжелых осложнений, как, например, активный мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит (см. рис. 8, 9, 10).

Малоантигенная диета является лечебным питанием, которая может улучшить клиренс циркулирующих иммунных комплексов путем восстановления активности ретикулоэндотелиальной системы, перегруженной большим количеством циркулирующих криоглобулинов [122, 123]. Диета с малой антигенной нагрузкой направлена на сокращение употребления пищевых макромолекул, проникающих через слизистую ЖКТ; некоторые продукты питания, в частности молочные продукты и яйца, обладают потенциальной антигенной активностью, а значит, могут быть вовлечены в патогенез некоторых заболеваний человека. Сокращение приема пищевых макромолекул может улучшить функцию мононуклеарных фагоцитов в условиях ненормальной эндогенной продукции иммунных комплексов, ответственных за повреждение органов, т.е. при криоглобулинемии и других им-



Рис. 10. Полная схема терапевтического подхода согласно тяжести/активности смешанной криоглобулинемии. У HCV-положительных пациентов со средней тяжести/тяжелым течением, особенно при наличии активного гепатита, может быть назначена противовирусная терапия пегилированным интерфероном (peg-IFN) и рибавирином (RIBA), при оценке возможных противопоказаний. При отсутствии ответа на терапию или при частичном ответе (вирусологическом) можно продолжить терапию ритуксимабом (RTX) (а). И наоборот, у пациентов с HCV (+) СК после удачного лечения ритуксимабом или другим противовоспалительным/иммуносупрессивным агентом, должна быть выполнена попытка эрадикации HCV (б). Наконец, комбинированная терапия высокими дозами кортикостероидов, плазмаферезом и циклофосфамидом является терапией выбора в случае жизнеугрожающих быстропрогрессирующих осложнений как при HCV, так и HCV+ криоглобулинемическом васкулитах. (см также Рис. 8 и 9).

мунокомплексных заболеваний. Нарушение функции мононуклеарных фагоцитов также имеет место при IgA-нефропатии [123]. Исходя из вышеупомянутых механизмов патогенеза, диеты с малой антигенной нагрузкой успешно применялись у пациентов с легкой степенью тяжести СК и IgA-нефропатией (снижение суточной протеинурии). Как правило, малоантигенная диета и/или низкие дозы стероидов (6-метилпреднизолон 2–4 мг/сут) могут оказаться достаточны для лечения нетяжелых клинических проявлений СК (артралгии, спорадическая пурпура и т.д.) (см. рис. 8, 9, 10); пациенты с легкой/средней степенью тяжести заболевания, например, пальпируемая пурпура, особенно чувствительны к небольшим вариациям дневной дозы гормонов (1–2 мг).

В клинической практике терапия СК должна подбираться индивидуально согласно тяжести клинических симптомов (см. рис. 9, 10). Вот почему пациентов с тяжелым васкулитом необходимо срочно начинать лечить высокими дозами преднизолона и/или плазмаферезом, и/или циклофосфамидом, или ритуксимабом. В некоторых недавних

клинических исследованиях утверждают, что непрерывная или комбинированная противовирусная/иммуносупрессивная терапия является эффективной терапевтической стратегией [124, 125]. Подобная агрессивная терапия особенно показана в случаях тяжелого клинического течения и частичного/временного ответа на стандартную терапию [25, 124, 125]. И напротив, асимптотические случаи не требуют какого-либо лечения даже при наличии высокого уровня криокрита. Во всех случаях обязателен тщательный клинический мониторинг течения болезни с особенной настороженностью в плане развития неопластических процессов. Предварительные исследования предполагают синергичное действие некоторых терапевтических подходов в сочетании с противовирусной терапией, например, циклоспорин А и ингибиторы фактора некроза опухоли при хроническом гепатите С [126–128]. Эти вещества могут способствовать снижению виремии и/или улучшению иммуноопосредованных печеночных и внепеченочных воспалительных проявлений; дальнейшие клинические исследования смогут оценить их потенциальную эффективность при СК.

Прогноз

Естественное течение СК непредсказуемо и жестко зависит от сопутствующих заболеваний, осложнений и ответа на лечение. Заболеваемость, связанная непосредственно с криоглобулинемией, может быть очень значительной (инфекции, сердечно-сосудистые заболевания, прогрессирующая потеря почечной функции, прогрессирующая нейропатия). Общий прогноз хуже у пациентов с вовлечением почек, печеночной недостаточностью, лимфопролиферативным заболеванием, злокачественными процессами. Средняя 10-летняя выживаемость после установления диагноза составляет приблизительно 50–60% [24]. Тщательный мониторинг угрожающих жизни осложнений СК (в

основном нефропатии, распространенного васкулита, В-клеточной лимфомы и других осложнений) должен проводиться у всех больных с СК.

Нерешенные вопросы

СК впервые была описана как отдельное заболевание в 1966 г. [5]; произошедшее 25 лет спустя открытие тесной связи между СК и ВГС [3, 11, 12, 25, 70] позволило лучше понять этиопатогенетические механизмы заболевания, что открыло новые подходы к лечению.

Однако некоторые моменты до сих пор не ясны:

1. Так как этиопатогенез СК, ассоциированной с HCV, является мультифакторным многоэтапным процессом, необходимо далее изучать два аспекта: а) является ли HCV только лишь пусковым фактором или же он может также принимать участие в самовозобновляющемся механизме заболевания; б) природа и роль других этиологических факторов.

2. Этиопатогенез «эссенциальной» смешанной криоглобулинемии.

3. Действительная роль эрадикации вируса гепатита С в естественном течении СК, ассоциированной с HCV.

4. Эффективность повторного курса терапии или комбинированной противовирусной/иммуносупрессивной терапии по сравнению с традиционными терапевтическими подходами.

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие конкурирующих интересов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Wintrobe M, Buell M. Hyperproteinemia associated with multiple myeloma. With report of a case in which an extraordinary hyperproteinemia was associated with thrombosis of the retinal veins and symptoms suggesting Raynaud's disease. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1933; 52: 156–165
2. Lospalluto J, Dorward B, Miller W, Jr, Ziff M. Cryoglobulinemia based on interaction between a gamma macroglobulin and 7S gamma globulin. *Am J Med* 1962; 32: 142–145
3. Ferri C, Zignego AL, Pileri SA. Cryoglobulins (review). *J Clin Pathol* 2002; 55: 4–13
4. Brouet JC, Clouvet JP, Danon F, Klein M, Seligmann M. Biologic and clinical significance of cryoglobulins. *Am J Med* 1974; 57: 775–788
5. Meltzer M, Franklin EC, Elias K, McCluskey RT, Cooper N. Cryoglobulinemia. A clinical and laboratory study. II. Cryoglobulins with rheumatoid factor activity. *Am J Med* 1966; 40: 837–856
6. Gorevic PD, Kassab HJ, Levo Y, Kohn R, Meltzer M, Prose P, Franklin E. Mixed Cryoglobulinemia: clinical aspects and long-term follow-up of 40 patients. *Am J Med* 1980; 69: 287–308
7. Invernizzi F, Galli M, Serino G, Monti G, Meroni PL, Granatieri C, Zanussi C. Secondary and essential cryoglobulinemias. Frequency, nosological classification, and long-term follow-up. *Acta Haematol* 1983; 70: 73–82
8. Monti G, Galli M, Invernizzi F, Pioltelli P, Saccardo F, Monteverde A, Pietrogrande M, Renoldi P, Bombardieri S, Bordin G, Candela M, Ferri C, Gabrielli A, Mazzaro C, Migliaresi S, Mussini C, Ossi E, Quintiliani L, Tirri G, Vacca A., GISC. Italian Group for the Study of Cryoglobulinaemias. Cryoglobulinaemias: a multi-centre study of the early clinical and laboratory manifestations of primary and secondary disease. *QJM* 1995; 88: 115–126
9. Dammacco F, Sansonno D. Mixed cryoglobulinemia as a model of systemic vasculitis. *Clin Rev Allergy Immunol* 1997; 15: 97–119
10. Lamprecht P, Gause A, Gross WL. Cryoglobulinemic vasculitis (review). *Arthritis Rheum* 1999; 42: 2507–2516
11. Ferri C, Antonelli A, Mascia MT, Sebastiani M, Fallahi P, Ferrari D, Pileri SA, Zignego AL. HCV-related autoimmune and neoplastic disorders: the HCV syndrome. *Dig Liver Dis* 2007; 39: S13–21
12. Ferri C, Antonelli A, Mascia MT, Sebastiani S, Fallahi P, Ferrari D, Giunti M, Pileri SA, Zignego AL. B-cells and mixed cryoglobulinemia. *Autoimmun Rev* 2007; 7: 114–120
13. Mascia MT, Ferrari D, Campioli D, Sandri G, Mussini C, Ferri C. Non HCV-related mixed cryoglobulinemia. *Dig Liver Dis* 2007; 39: S61–64
14. Abel G, Zhang QX, Agnello V. Hepatitis C virus infection in type II mixed cryoglobulinemia (review). *Arthritis Rheum* 1993; 36: 1341–1349
15. Pawlotsky J, Mustapha B, Andre C, Voisin M-C, Intrator L, Roudot-Thoraval F, Deforges L, Duvoux C, Zairani E-S, Duval J. Immunological disorders in C virus chronic active hepatitis: a prospective case-control study. *Hepatology* 1994; 19: 841–848
16. Lunel F, Musset L, Cacoub P, Frangeul L, Cresta P, Perrin M, Grippon P, Hoang C, Valla D, Piette JC. Cryoglobulinemia in chronic liver diseases: role of hepatitis C virus and liver damage. *Gastroenterology* 1994; 106: 1291–1300
17. Herrine SK. Approach to the patient with chronic hepatitis C virus infection. *Ann Intern Med* 2002; 136: 7477–7457
18. Ferri C, Bertozzi MA, Zignego AL. Erectile dysfunction and hepatitis C virus infection. *JAMA* 2002; 288: 698–699
19. Monteverde A, Ballarín M, Pileri S. Hepatic lymphoid aggregates in chronic hepatitis C and mixed cryoglobulinemia. *Springer Semin Immunopathol* 1997; 19: 99–110
20. Pozzato G, Mazzaro C, Crovatto M, Modolo ML, Ceselli S, Mazzi G, Sulfaro S, Franzin F, Tulissi P, Moretti M, Santini GF. Low-grade malignant lymphoma, hepatitis C virus infection, and mixed cryoglobulinemia. *Blood* 1994; 84: 3047–3053.
21. Sansonno D, De Vita S, Cornacchiolo V, Carbone A, Baiocchi M, Dammacco F. Detection and distribution of hepatitis C-related proteins in lymph nodes of patients with type II cryoglobulinemia and neoplastic or non-neoplastic lymphoproliferation. *Blood* 1996; 88: 4638–4645.
22. Dammacco F, Sansonno D, Piccoli C, Racanelli V, D'Amore FP, Lauletta G. The lymphoid system in hepatitis C virus infection: autoimmunity, mixed cryoglobulinemia, and Overt B-cell malignancy. *Semin Liver Dis* 2000; 20: 143–157
23. Kallemuchikkal U, Gorevic PD. Evaluation of cryoglobulins. *Arch Pathol Lab Med*. 1999; 123: 119–125
24. Ferri C, Sebastiani M, Giuggioli D, Cazzato M, Longombardo G, Antonelli A, Puccini R, Michelassi C, Zignego AL. Mixed cryoglobulinemia: demographic, clinical, and serological features, and survival in 231 patients. *Semin Arthritis Rheum* 2004; 33: 355–374
25. Ferri C, Mascia MT. Cryoglobulinemic vasculitis: Review. *Curr Opin Rheumatol* 2006; 18: 54–63
26. Bombardieri S, Ferri C, Migliorini P, Pontrandolfo A, Puccetti A, Vitali C, Pasero G. Cryoglobulins and immune complexes in essential mixed cryoglobulinemia. *Ric Clin Lab* 1986; 16: 281–288
27. Ferri C, Mannini L, Bartoli V, Gremignai G, Genovesi-Ebert F, Cristofani R, Albanese B, Pasero G, Bombardieri S. Blood viscosity and filtration abnormalities in mixed cryoglobulinemia patients. *Clin Exp Rheumatol* 1990; 8: 271–281
28. Fadda P, La Civita L, Zignego AL, Ferri C. Hepatitis C virus infection and arthritis. A clinico-serological investigation

of arthritis in patients with or without cryoglobulinemic syndrome. *Reumatismo* 2002; 54: 316–323

29. Ferri C, La Civita L, Cirafisi C, Siciliano G, Longombardo G, Bombardieri S, Rossi B. Peripheral neuropathy in mixed cryoglobulinemia: clinical and electrophysiological investigations. *J Rheumatol* 1992; 19: 889–895

30. Ammendola A, Sampaolo S, Ambrosone L, Ammendola E, Ciccone G, Migliaresi S, Di Iorio G. Peripheral neuropathy in hepatitis-related mixed cryoglobulinemia: electrophysiologic follow-up study. *Muscle Nerve* 2005; 31: 382–385

31. Di Lullo L, De Rosa FG, Coviello R, Sorgi ML, Coen G, Zorzini LR, Casato M. Interferon toxicity in hepatitis C virus-associated type II cryoglobulinemia. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16: 506

32. La Civita L, Zignego AL, Lombardini F, Monti M, Longombardo G, Pasero G, Ferri C. Exacerbation of peripheral neuropathy during alpha-interferon therapy in a patient with mixed cryoglobulinemia and hepatitis B virus infection. *J Rheumatol* 1996; 23: 1641–1643

33. Lidove O, Cacoub P, Hausfater P, Wechsler B, Frances C, Leger JM, Piette JC. Cryoglobulinemia and hepatitis C: worsening of peripheral neuropathy after interferon alpha treatment. *Gastroenterol Clin Biol* 1999; 23: 403–406

34. Casato M, Saadoun D, Marchetti A, Limal N, Picq C, Pantano P, Galanaud D, Cianci R, Duhaut P, Piette JC, Fiorilli M, Cacoub P. Central nervous system involvement in hepatitis C virus cryoglobulinemia vasculitis: a multicenter case-control study using magnetic resonance imaging and neuropsychological tests. *J Rheumatol* 2005; 32: 484–488

35. Druet P, Letonturier P, Contet A, Mandet C. Cryoglobulinaemia in human renal diseases. A study of seventy-six cases. *Clin Exp Immunol* 1973; 15: 483–496

36. Longombardo G, Ferri C, Marchi S, Costa F, Lombardini F, Vacri L, Bombardieri S, Migliorini P. Immune response to an epitope of the NS4 protein of hepatitis C virus in HCV-related disorders. *Clin Immunol Immunopathol* 1998; 87: 124–129

37. Uchiyama-Tanaka Y, Mori Y, Kishimoto N, Nose A, Kijima Y, Nagata T, Umeda Y, Masaki H, Matsubara H, Iwasaka T. Membranous glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection: case report and literature review. *Clin Nephrol* 2004; 61: 144–150

38. Sabbatini A, Dolcher MP, Marchini B, Chimenti D, Moscato S, Pratesi F, Bombardieri S, Migliorini P. Alpha-enolase is a renal-specific antigen associated with kidney involvement in mixed cryoglobulinemia. *Clin Exp Rheumatol* 1997; 15: 655–658

39. Quartuccio L, Fabris M, Salvin S, Isola M, Soldano F, Falletti E, Beltrami CA, De Re V, De Vita S. Bone marrow B-cell clonal expansion in type II mixed cryoglobulinaemia: association with nephritis. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46: 1657–1661

40. Kaplanski G, Maisonneuve J, Marin V, Grus S, Robitail S, Farnarier C, Harliß JR, Piette JC, Cacoub P. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) plays a central role in the pathogenesis of severe forms of vasculitis due to hepatitis C-associated mixed cryoglobulinemia. *J Hepatol* 2005; 42: 334–340

41. Bombardieri S, Paoletti P, Ferri C, Di Munno O, Fornai E, Giuntini C. Lung involvement in essential mixed cryoglobulinemia. *Am J Med* 1979; 66: 748–756

42. Salaffi F, Manganelli P, Carotti M, Subiaco S, Cervini C. Mixed cryoglobulinemia: effect of alpha-interferon on subclinical lymphocytes alveolitis. *Clin Exp Rheumatol* 1996; 14: 219–220

43. Ferri C, La Civita L, Fazzi P, Solfanelli S, Lombardini F, Begliomini N, Monti M, Longombardo G, Pasero G, Zignego AL. Interstitial lung fibrosis and rheumatic disorders in patients with hepatitis C virus infection. *Br J Rheumatol* 1997; 36: 360–365

44. Manganelli P, Salaffi F, Subiaco S, Carotti M, Cervini C, Consigli G, Majori M, Pesci A. Bronchoalveolar lavage in mixed cryoglobulinaemia associated with hepatitis C virus. *Br J Rheumatol* 1996; 35: 978–982

45. Vitali C, Ferri C, Nasti P, La Civita L, Mazzantini M, Longombardo G, Bombardieri S. Hypercomplementaemia as a marker of the evolution from benign to malignant B-cell

proliferation in patients with type II mixed cryoglobulinaemia. *Br J Rheumatol* 1994; 33: 791–792

46. Antonelli A, Ferri C, Fallahi P, Giuggioli D, Nesti C, Longombardo G, Fadda P, Pampana A, Maccheroni M, Ferrannini E. Thyroid involvement in patients with overt HCV-related mixed cryoglobulinaemia. *QJM* 2004; 97: 499–506

47. Antonelli A, Ferri C, Fallahi P, Sebastiani M, Nesti C, Barani L, Barale R, Ferrannini E. Type 2 diabetes in hepatitis C-related mixed cryoglobulinaemia patients. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43: 238–240

48. Antonelli A, Ferri C, Fallahi P, Nesti C, Zignego AL, Maccheroni M. Thyroid cancer in HCV-related mixed cryoglobulinemia patients. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20: 693–696

49. Ferri C, Bertozzi MA, Zignego AL. Erectile dysfunction and hepatitis C virus infection. *JAMA* 2002; 288: 698–699

50. Antonelli A, Ferri C, Fallahi P. Thyroid cancer in patients with hepatitis C infection. *JAMA* 1999; 281: 1588

51. Ferri C, Marzo E, Longombardo G, Lombardini F, La Civita L, Vanacore R, Liberati AM, Gerli R, Greco F, Moretti A, Monti M, Gentilini P, Bombardieri S, Zignego AL. Alpha-Interferon in Mixed Cryoglobulinemia patients: a randomized crossover controlled trial. *Blood* 1993; 81: 1132–1136

52. Di Lullo L, De Rosa FG, Coviello R, Sorgi ML, Coen G, Zorzini LR, Casato M. Interferon toxicity in hepatitis C virus-associated type II cryoglobulinemia. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16: 506

53. La Civita L, Zignego AL, Lombardini F, Monti M, Longombardo G, Pasero G, Ferri C. Exacerbation of peripheral neuropathy during alpha-interferon therapy in a patient with mixed cryoglobulinemia and hepatitis B virus infection. *J Rheumatol* 1996; 23: 1641–1643

54. Lidove O, Cacoub P, Hausfater P, Wechsler B, Frances C, Leger JM, Piette JC. Cryoglobulinemia and hepatitis C: worsening of peripheral neuropathy after interferon alpha treatment. *Gastroenterol Clin Biol* 1999; 23: 403–406

55. Antonelli A, Ferri C, Fallahi P, Sebastiani M, Nesti C, Barani L, Barale R, Ferrannini E. Type 2 diabetes in hepatitis C-related mixed cryoglobulinaemia patients. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43: 238–240

56. Mehta SH, Brancati FL, Sulkowski MS, Strathdee SA, Szklo M, Thomas DL. Prevalence of type 2 diabetes mellitus among persons with hepatitis C virus infection in the United States. *Ann Intern Med* 2000; 133: 592–599

57. Antonelli A, Ferri C, Galeazzi M, Giannitti C, Manno D, Mieli-Vergani G, Menegatti E, Olivieri I, Puoti M, Palazzi C, Roccatello D, Vergani D, Sarzi-Puttini P, Atzeni F. HCV infection: pathogenesis, clinical manifestations and therapy. *Clin Exp Rheumatol* 2008; 26: S39–S47

58. Monteverde A, Rivano MT, Allegra GC, Monteverde AI, Ziggrossi P, Baglioni P, Gobbi M, Falini B, Bordin G, Pileri S. mixed cryoglobulinemia, type II: a manifestation of low malignant lymphoma? Clinical-morphological study of 12 cases with special reference to immunohistochemical findings in liver frozen sections. *Acta Haematol* 1988; 79: 20–25

59. Ferri C, Pileri S, Zignego AL. Hepatitis C virus, B-cell disorders, and non-Hodgkin's lymphoma. In: Goedert JJ, editor. Infectious causes of cancer: targets for intervention National Cancer Institute (NIH). Totowa, NJ: The Humana Press Inc, 2000; 349–368

60. Pozzato G, Mazzaro C, Crovatto M, Modolo ML, Ceselli S, Mazzi G, Sulfaro S, Franzin F, Tulissi P, Moretti M, Santini GF. Low-grade malignant lymphoma, hepatitis C virus infection, and mixed cryoglobulinemia. *Blood* 1994; 84: 3047–3053

61. La Civita L, Zignego AL, Monti M, Longombardo G, Pasero G, Ferri C. Mixed cryoglobulinemia as a possible preneoplastic disorder. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 1859–1860

62. Monti G, Pioltelli P, Saccardo F, Campanini M, Candela M, Cavallero G, De Vita S, Ferri C, Mazzaro C, Migliaresi S, Ossi E, Pietrogrande M, Gabrielli A, Galli M, Invernizzi F. Incidence and characteristics of non-Hodgkin lymphomas in a multicenter case file of patients with hepatitis C virus-related symptomatic mixed cryoglobulinemias. *Arch Intern Med* 2005; 165: 101–105

63. Zignego AL, Ferri C, Giannelli F, Giannini C, Caini P,

- Monti M, Marrocchi EM, Di Pietro E, La Villa G, Laffi G, Gentilini P. Prevalence of BCL-2 rearrangement in hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia with or without complicating B-cell lymphoma. *Ann Intern Med* 2002; 137: 571–580
64. Ferri C, Caracciolo F, Zignego AL, La Civita L, Monti M, Longombardo G, Lombardini F, Greco F, Capochiani E, Mazzoni A, Mazzaro C, Pasero G. Hepatitis C virus infection in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 1994; 88: 392–394
65. Matsuo K, Kusano A, Sugumar A, Nakamura S, Tajima K, Mueller NE. Effect of hepatitis C virus infection on the risk of non-Hodgkin's lymphoma: a meta-analysis of epidemiological studies. *Cancer Sci*. 2004; 95: 745–752
66. Levo Y, Gorevic PD, Kassab HJ, Zucker-Franklin D, Franklin EC. Association between hepatitis B virus and essential mixed cryoglobulinemia. *N Engl J Med* 1977; 296: 1501–1504
67. Choo GL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989; 244: 359–361
68. Pascual M, Perrin L, Giostra E, Schifer JA. Hepatitis C virus in patients with Cryoglobulinemia type II. *J Infect Dis* 1990; 162: 569–570
69. Ferri C, Marzo E, Longombardo G, Lombardini F, Greco F, Bombardieri S. Alpha-interferon in the treatment of mixed cryoglobulinemia patients. International Cancer Update. Focus on Interferon Alfa 2b. Cannes, France. November 1–4, 1990. Proceedings. *Eur J Cancer* 1991; 27: 81–82
70. Ferri C, Greco F, Longombardo G, Palla P, Marzo E, Moretti A, Mazzoni A, Pasero G, Bombardieri S, Highfield P, Corbishley T. Association between hepatitis C virus and mixed cryoglobulinemia. *Clin Exp Rheumatol*. 1991; 9: 621–624
71. Misiani R, Bellavita P, Fenili D, Borelli G, Marchesi D, Massazza M, Vendramin G, Comotti B, Tanzi E, Scudeller G. Hepatitis C virus infection in patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Ann Intern Med* 1992; 117: 573–577
72. Agnello V, Chung RT, Kaplan LM. A role for hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia. *N Engl J Med* 1992; 327: 1490–1495
73. Ferri C, Monti M, La Civita L, Longombardo G, Greco F, Pasero G, Gentilini P, Bombardieri S, Zignego AL. Infection of peripheral blood mononuclear cells by hepatitis C virus in mixed cryoglobulinemia. *Blood* 1993; 82: 3701–3704
74. Gumber S, Chopra S. Hepatitis C: a multifaceted disease. Review of extrahepatic manifestations (review). *Ann Intern Med* 1995; 123: 615–620
75. De Vita S, Sansonno D, Dolcetti R, Ferraccioli G, Carbone A, Cornacchiulo V, Santini G, Crovatto M, Gloghini A, Dammacco F, Boiocchi M. Hepatitis C virus within a malignant lymphoma lesion in the course of type II mixed cryoglobulinemia. *Blood* 1995; 86: 1887–1892
76. Agnello V, Abel G. Localization of hepatitis C virus in cutaneous vasculitic lesions in patients with type II cryoglobulinemia. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 2007–2015
77. Zignego AL, Macchia D, Monti M, Thiers V, Mazzetti M, Foschi M, Maggi E, Romagnani S, Gentilini P, Br  chot C. Infection of peripheral mononuclear blood cells by hepatitis C virus. *J Hepatol* 1992; 15: 382–386
78. Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, Galli G, Falugi F, Petracca R, Weiner AJ, Houghton M, Rosa D, Grandi G, Abrignani S. Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science* 1998; 282: 938–941
79. Zignego AL, Ferri C, Pileri SA, Caini P, Bianchi FB., for the Italian Association of the Study of Liver Commission on Extrahepatic Manifestations of HCV infection. Extrahepatic manifestations of Hepatitis C Virus infection: a general overview and guidelines for a clinical approach: Review. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 2–17
80. Sansonno D, Tucci FA, De Re V, Lauletta G, Montrone M, Libra M, Dammacco F. HCV-associated B cell clonalities in the liver do not carry the t(14;18) chromosomal translocation. *Hepatology* 2005; 42: 1019–1027.
81. Giannini C, Giannelli F, Zignego AL. Association between mixed cryoglobulinemia, translocation (14;18), and persistence of occult HCV lymphoid infection after treatment. *Hepatology* 2005; 42: 1019–1027
82. Machida K, Cheng KT, Sung VM, Shimodaira S, Lindsay KL, Levine AM, Lai MY, Lai MM. Hepatitis C virus induces a mutator phenotype: enhanced mutations of immunoglobulin and protooncogenes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 4262–4267
83. Migliaresi S, Bresciani A, Ambrosone L, Spera M, Barbarulo D, Lombardi V, Pirozzi G, Borgia G, Lombardi ML, Tirri G, Manzo C. Increased serum concentrations of soluble HLA-class I antigens in hepatitis C virus related mixed cryoglobulinemia. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 20–25
84. De Re V, Caggiari L, Simula MP, De Vita S, Mazzaro C, Lenzi M, Massimo GM, Monti G, Ferri C, Zignego AL, Gabrielli A, Sansonno D, Dammacco F, Libra M, Sacchi N, Talamini R, Spina M, Tirelli U, Cannizzaro R, Dolcetti R. Role of the HLA class II: HCV-related disorders. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1107: 308–318
85. Dimitrakopoulos AN, Kordossis T, Hatzakis A, Moutsopoulos HM. Mixed cryoglobulinemia in HIV-1 infection: the role of HIV-1. *Ann Intern Med* 1999; 130: 226–230
86. Scotto G, Cibelli DC, Saracino A, Prato R, Palumbo E, Fazio V, Scarabaggio T, Monno L, Angarano G. Cryoglobulinemia in subjects with HCV infection alone, HIV infection and HCV/HIV coinfection. *J Infect* 2006; 52: 294–299
87. Tzioufas AG, Boumba DS, Skopouli FN, Moutsopoulos HM. Mixed monoclonal cryoglobulinemia and monoclonal rheumatoid factor cross-reactive idiotypes as predictive factors for the development of lymphoma in primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 767–772
88. Lenzi M, Johnson PJ, McFarlane IG, Ballardini G, Smith HM, McFarlane BM, Bridger C, Vergani D, Bianchi FB, Williams R. Antibodies to hepatitis C virus in autoimmune liver disease: evidence for geographical heterogeneity. *Lancet* 1991; 338: 277–280
89. Ferri C, Longombardo G, La Civita L, Greco F, Lombardini F, Cecchetti R, Cagianelli MA, Marchi S, Monti M, Zignego AL, Manns MP. Hepatitis C virus as common cause of mixed cryoglobulinemia and chronic liver disease. *J Intern Med* 1994; 236: 31–36
90. Buskila D. Hepatitis C-associated arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 295–299
91. Wener MH, Hutchinson K, Morishima C, Gretch DR. Absence of antibodies to cyclic citrullinated peptide in sera of patients with hepatitis C virus infection and cryoglobulinemia. *Arthritis-Rheum* 2004; 50: 2305–2308
92. Bombardieri M, Alessandri C, Labbadia G, Iannuccelli C, Carlucci F, Riccieri V, Paoletti V, Valesini G. Role of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in discriminating patients with rheumatoid arthritis from patients with chronic hepatitis C infection-associated polyarticular involvement. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: 137–141
93. Ramos-Casals M, García-Carrasco M, Cervera R, Rosas J, Trejo O, de la Red G, Sánchez-Tapias JM, Font J, Ingelmo M. Hepatitis c virus infection mimicking primary Sjögren's syndrome: a clinical and immunologic description of 35 cases. *Medicine (Baltimore)* 2001; 80: 1–8
94. Vasil'ev VI, Probatova NA, Varlamova Elu, Tupitsin NN, Simonova MV, Safonova TN, Bozh'eva LA, Shornikova NS, Logvinenko OA, Belenin Glu. Prognostic implications of mixed monoclonal cryoglobulinemia in Sjögren's disease. *Ter Arkh* 2004; 76: 61–68
95. Ramos-Casals M, De Vita S, Tzioufas A. Hepatitis C virus, Sjögren's syndrome and B-cell lymphoma: linking infection, autoimmunity and cancer. *Autoimmun Rev* 2005; 4: 8–15
96. Ramos-Casals M, Loustaud-Ratti V, De Vita S, Zeher M, Bosch JA, Toussiot E, Medina F, Rosas J, Anaya JM, Font J., SS-HCV Study Group. Sjögren syndrome associated with hepatitis C virus: a multicenter analysis of 137 cases. *Medicine* 2005; 84: 81–89
97. Ramos-Casals M, Brito-Zern P, Yag  e J, Akasbi M, Bautista R, Ruano M, Claver G, Gil V, Font J. Hypocomplementaemia as an immunological marker of

morbidity and mortality in patients with primary Sjogren's syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44: 89–94

98. Ioannidis JPA, Vassiliou VA, Moutsopoulos HM. Long term risk of mortality and lymphoproliferative disease and predictive classification of primary Sjogren's syndrome. *Arth Rheum* 2002; 46: 741–747

99. Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, Daniels TE, Fox PC, Fox RI, Kassan SS, Pillemer SR, Talal N, Weisman MH., European Study Group on Classification Criteria for Sjogren's Syndrome. Classification criteria for Sjogren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 554–558

100. Pillemer SR, Smith J, Fox P, Bowman SJ. Outcome measures for Sjogren's syndrome, april 10–11, 2003, Bethesda, Maryland, USA. *J Rheumatol* 2005; 31: 143–149

101. Italian Group for the Study of Cryoglobulinemias (GISC). Ferri C., Ed. Metodologie di studio e protocolli diagnostici. S Margherita di Pula, Cagliari. 1989.

102. Tissot JD, Schifferli JA, Hochstrasser DF, Pasquali C, Spertini F, Clement F, Frutiger S, Paquet N, Hughes GJ, Schneider P. Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis analysis of cryoglobulins and identification of an IgM-associated peptide. *J Immunol Methods* 1994; 173: 63–75

103. Andre M, Mahammedi H, Aumaitre O, Tridon A, Tissot JD, Piette JC. A «missed» cryoglobulin: the importance of in vitro calcium concentration. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 490–492

104. Mondelli MU, Zorzoli I, Cerino A, Cividini A, Bissolati M, Segagni L, Perfetti V, Anesi E, Garini P, Merlini G. Clonality and specificity of cryoglobulins associated with HCV: pathophysiological implications. *J Hepatol* 1998; 29: 879–886

105. Landau D, Saadoun D, Halfon F, Martinot-Peignoux M, Marcellin P, Fois E, Cacoub P. Relapse of Hepatitis C Virus-Associated Mixed Cryoglobulinemia Vasculitis in Patients With Sustained Viral Response. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 604–611

106. Casato M, Lagana B, Antonelli G, Dianzani F, Bonomo L. Long-term results of therapy with interferon-alpha for type II essential mixed cryoglobulinemia. *Blood* 1991; 78: 3142–3785

107. Misiani R, Bellavita P, Fenili D, Vicari O, Marchesi D, Sironi PL, Zilio P, Vernocchi A, Massazza M, Vendramin G. Interferon alfa-2a therapy in cryoglobulinemia associated with hepatitis C virus. *N Engl J Med* 1994; 330: 751–756

108. Vassilopoulos D, Calabrese LH. Hepatitis C virus infection and vasculitis: implications of antiviral and immunosuppressive therapies. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 585–597

109. Mazzaro C, Franzin F, Tulissi P, Pussini E, Crovatto M, Carniello GS. Regression of monoclonal B-cell expansion in patients affected by mixed cryoglobulinemia responsive to a-interferon therapy. *Cancer* 1996; 77: 2604–2613

110. Misiani R, Bellavita P, Baio P, Caldara R, Ferruzzi S, Rossi P, Tengattini F. Successful treatment of HCV-associated cryoglobulinaemic glomerulonephritis with a combination of interferon-alpha and ribavirin. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1558–1560

111. Zuckerman E, Keren D, Slobodin G, Rosner I, Rozenbaum M, Toubi E, Sabo E, Tsykounov I, Naschitz JE, Yeshurun D. Treatment of refractory, symptomatic, hepatitis C virus related mixed cryoglobulinemia with ribavirin and interferon-alpha. *J Rheumatol* 2000; 27: 2172–2178

112. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, Lee WM, Rustgi VK, et al. Interferon alpha-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med* 1998; 339: 1485–1492

113. Mazzaro C, Zora F, Caizzi M, Donada C, Di Gennaro G, Dal Maso K, Carniello G, Virgolini L, Tirelli U, Pozzato G. Treatment with peg-interferon alfa-2b and ribavirin of hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia: a pilot study. *J Hepatol* 2005; 42: 632–638

114. Saadoun D, Resche-Rigon M, Thibault V, Piette JC, Cacoub P. Antiviral therapy for hepatitis C virus – associated mixed cryoglobulinemia vasculitis: a long-term followup study. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 3696–3706

115. Barth H, Schnober EK, Neumann-Haefelin C, Thumann C, Zeisel MB, Diepolder HM, Hu Z, Liang TJ, Blum HE, Thimme R, Lambotin M, Baumert TF. Scavenger Receptor Class B is Required for Hepatitis C Virus Uptake and Cross-presentation by Human Dendritic Cells. *J Virol* 2008; 82: 3466–3479

116. Zaja F, De Vita S, Mazzaro C, Sacco S, Damiani D, De Marchi G, Michelutti A, Baccarani M, Fanin R, Ferraccioli G. Efficacy and safety of rituximab in type II mixed cryoglobulinemia. *Blood* 2003; 101: 3827–3834

117. Sansonno D, De Re V, Lauletta G, Tucci FA, Boiocchi M, Dammacco F. Monoclonal antibody treatment of mixed cryoglobulinemia resistant to interferon alpha with an anti-CD20. *Blood* 2003; 101: 3818–3126

118. Roccatello D, Baldovino S, Rossi D, Mansouri M, Naretto C, Gennaro M, Cavallo R, Alpa M, Costanzo P, Giachino O, Mazzucco G, Sena LM. Long-term effects of anti-CD20 monoclonal antibody treatment of cryoglobulinaemic glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 3054–3061

119. Cacoub P, Delluc A, Saadoun D, Landau DA, Sene D. Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) treatment for cryoglobulinemia vasculitis: where do we stand? *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 283–287

120. Ferri C, Moriconi L, Gremignai G, Migliorini P, Paleologo G, Fosella PV, Bombardieri S. Treatment of renal involvement in essential mixed cryoglobulinemia with prolonged plasma exchange. *Nephron* 1986; 43:246–251

121. Moriconi L, Ferri C, Puccini R, Casto G, Baronti R, Cecchetti R, Gremignai G, Cioni L, Bombardieri S. Double filtration plasmapheresis in the treatment of cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Int J Art Org* 1989; 12: 83–86

122. Ferri C, Pietrogrande M, Cecchetti C, Tavoni A, Cefalo A, Buzzetti G, Vitali C, Bombardieri S. Low-antigen-content diet in the treatment of mixed cryoglobulinemia patients. *Am J Med* 1989; 87: 519–524

123. Ferri C, Puccini R, Longombardo G, Paleologo G, Migliorini P, Moriconi L, Pasero G, Cioni L. Low-antigen-content diet in the treatment of patients with IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 1993; 8: 1193–1198

124. Lamprecht P, Lerin-Lozano C, Merz H, Dennin RH, Gause A, Voswinkel J, Peters SO, Gutzeit O, Arlt AC, Solbach W, Gross WL. Rituximab induces remission in refractory HCV associated cryoglobulinaemic vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 1230–1233

125. Saadoun D, Resche-Rigon M, Sene D, Perard L, Piette JC, Cacoub P. Rituximab combined with Peg-Interferon-Ribavirin in refractory HCV-associated cryoglobulinemia vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2008 Jan 4.

126. Galeazzi M, Bellisai F, Manganelli S, Morozzi G, Sebastiani GD. Cyclosporine A for the treatment of autoimmune disorders in HCV infected patients. *Autoimmun Rev* 2006; 5: 493–498

127. Zein NN, for the Etanercept Study Group. Etanercept as an adjuvant to interferon and ribavirin in treatment-naive patients with chronic hepatitis C virus infection: a phase 2 randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Hepatol* 2005; 42: 315–322

128. Vassilopoulos D, Calabrese LH. Risks of immunosuppressive therapies including biologic agents in patients with rheumatic diseases and co-existing chronic viral infections. Review. *Curr Opin Rheumatol* 2007; 19: 619–625

Перевод с английского: М.С. Храброва

Поступила в редакцию 20.11.2009 г.
Принята в печать 02.03.2010 г.

© Я.Ф.Зверев, А.Ю.Жариков, В.М.Брюханов, В.В.Лампатов, 2010
УДК 616.63-003.7:621.376]:532.781

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

МОДУЛЯТОРЫ ОКСАЛАТНОГО НЕФРОЛИТИАЗА. ИНГИБИТОРЫ КРИСТАЛЛИЗАЦИИ

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

MODULATORS OF OXALATE NEPHROLITHIASIS. INHIBITORS' CRYSTALLIZATION

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

РЕФЕРАТ

Обзор литературы посвящен описанию факторов, препятствующих нуклеации, агрегации и росту кристаллов оксалата кальция. Основными белковыми макромолекулами, ингибирующими образование почечных камней, являются протеин Тамма-Хорсфалла, остеопонтин, бикунин и фрагмент 1 протромбина. В обзоре анализируются особенности структуры и функции данных гликопротеинов, обсуждаются их вероятные механизмы действия и роль в патогенезе мочекаменной болезни.

Ключевые слова: оксалатный нефролитиаз, ингибиторы кристаллизации.

ABSTRACT

Review of the literature focuses on barriers to nucleation, aggregation-nucleation and the growth of crystals of calcium oxalate. Main proteins, inhibiting the formation of kidney stones, are protein Tamm-Horsfall, osteopontin, bikunin and prothrombin fragment 1. In particular, we analyze the structure and function of these glycoproteins, discusses their likely mechanism of action and role in the pathogenesis of urolithiasis.

Key words: oxalate nephrolithiasis, inhibitors of crystallization.

Как известно, нормальная моча человека пересыщена солями и, в первую очередь, оксалатом и фосфатом кальция, способными индуцировать образование почечных камней [1]. Это адаптационный процесс, являющийся следствием гомеостатического сохранения воды в организме. Однако далеко не у всех людей возникает склонность к развитию нефролитиаза. По всей видимости, это в значительной степени обусловлено наличием в моче белковых макромолекул (в основном – гликопротеинов), препятствующих кристаллизации. Многие исследования показали, что нарушение функции этих ингибиторов кристаллизации следует рассматривать как один из пусковых факторов развития нефролитиаза [2, 3]. Поэтому вполне вероятно, что у людей, склонных к образованию почечных камней, имеются определенные количественные или качественные изменения структуры и/или функции этих макромолекул. И действительно, давно показано, что при добавлении ионов оксалата и кальция к моче пациентов с оксалатным нефролитиазом процесс кристаллизации происходит более активно, чем в моче здоровых людей, а

добавление нормальной мочи в значительной степени ингибирует адгезию кристаллов оксалата кальция к культивируемым почечным клеткам [4, 5].

Данный обзор литературы посвящен роли основных белковых макромолекул, ингибирующих кристаллизацию оксалата кальция, к которым относятся протеин Тамма-Хорсфалла (ТНП), остеопонтин (OPN), бикунин и фрагмент 1 мочевого протромбина.

Протеин Тамма-Хорсфалла

История изучения протеина Тамма-Хорсфалла (в оригинальной транскрипции Tamm-Horsfall protein, ТНП) берет начало с 1950 г., когда американские исследователи I.Tamm и F.L.Horsfall выделили из человеческой мочи мукопротеин, обладающий способностью ингибировать гемагглютинацию вирусов [6]. Оказалось, что этот протеин принимает участие во многих патологических процессах в почках, в том числе играет важную роль в патогенезе нефролитиаза [7, 8]. На протяжении всех этих десятилетий перед научным сообществом стоит вопрос: в чем же в действительности заключается эта роль? К сожалению, однозначно и исчерпывающего ответа по-прежнему нет. Одни авторы считают, что ТНП защищает почеч-

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

ные каналы от адгезии кристаллов, другие – приводят экспериментальные доказательства обратного, т.е. позиционируют ТХП в качестве стимулятора камнеобразования. Как часто бывает, истина, по всей видимости, находится где-то на стыке обеих точек зрения. Поэтому мы попытаемся хотя бы отчасти прояснить роль протеина Тамма–Хорсфалла в патогенезе мочекаменной болезни.

Сведения о структуре ТХП начали появляться уже вскоре после его открытия. В 1952 г. было установлено, что он в высокой степени гликозилирован. Количество гликозилированных группировок составляет примерно 30% от общего содержания углеводов в молекуле ТХП [9]. Выяснено, что ТХП является самым обильным гликопротеином мочи здоровых людей, а его молекулярная масса составляет примерно 90 kDa [10]. Хроматографическое разделение гликопептидов, входящих в структуру ТХП, и их дальнейшее изучение при помощи спектроскопии показало, что они относятся к N-гликозильному и N-ацетиллактозаминному типам [11]. Важное событие в понимании структуры ТХП произошло в 1985 г., когда A.V.Muchmore и J.M.Decker выделили из мочи беременных женщин гликопротеин массой 85 kDa, получивший название «уромодулин» [12]. Дальнейшее исследование первичной структуры этого белка показало, что она гомологична структуре ТХП. Именно поэтому в ряде публикаций ТХП и уромодулин упоминаются как тождественные понятия. Возможно, это не совсем верно, поскольку показано, что указанные вещества по-разному фосфорилируются, а это предопределяет некоторые особенности их функционирования [13]. Не вдаваясь в подробности этой дискуссии, отметим, что открытие уромодулина позволило значительно точнее идентифицировать структуру ТХП. Установлено, что белковая часть гликопротеина состоит из 616 аминокислот, включая 48 цистеиновых последовательностей, вовлеченных в построение 24 дисульфидных мостиков, важных для конформации белка. Выявлено наличие 8 участков N-гликозилирования, объясняющих высокое содержание углеводов в молекуле ТХП [12]. Кроме того, уромодулин содержит 4 домена эпидермального фактора роста, включающих кальций-связывающие последовательности, которые, по-видимому, определяют процесс взаимодействия с другими белками [14]. Отличительной структурной особенностью ТХП является наличие так называемого домена *Zona Pellucida* [15]. Известно, что *Zona Pellucida* – это белковая часть оболочки яйцеклетки, обеспечивающая взаимодействие со сперматозоидами [16]. Наличие в структуре ТХП *Zona Pellucida* позволяет предположить

существование регуляторной связи между ним и эстрогенами, что подтверждается некоторыми экспериментальными данными [17].

Изучение локализации протеина Тамма–Хорсфалла в организме первоначально показало, что соответствующая мРНК экспрессирована только в почках [18], хотя были проведены попытки выявить экспрессию ТХП и в других тканях. Так что сегодня с определенностью можно говорить лишь о почечной локализации ТХП. Установлено, что ТХП в нефроне присутствует в основном в клетках толстого восходящего отдела петли Генле, включая сегмент выше плотного пятна, переходящий в начальные отделы дистальных канальцев [19, 20]. Внутриклеточный транспорт ТХП можно представить следующим образом: ТХП образуется из прекурсоров, депонирующихся в эндоплазматическом ретикулуме. При этом установлено, что для выхода в цитоплазму принципиально важно образование правильной сети дисульфидных мостиков [21]. После этого протеин транспортируется в комплекс Гольджи, где завершается процесс образования гликанов, а затем перемещается к люминальной поверхности клетки. К поверхности клеток ТХП прикрепляется с помощью фосфатидилинозитольного якоря [15]. Конечным этапом высвобождения является расщепление фосфатидилинозитольной группы специфической фосфолипазой, что приводит к отсоединению ТХП от мембраны и накоплению его в моче [14].

Процесс синтеза ТХП находится под контролем специфического гена (*UMOD*). Установлено, что этот ген локализуется на хромосоме 16p [22]. Проблема регуляции образования и экскреции ТХП довольно сложна. В разных опытах статистический разброс экскреции ТХП весьма высок – от 5 до 600 мг/сут [23–26]. Было предложено несколько объяснений наблюдаемых различий. Во-первых, на точность результатов оказывает влияние различие методических подходов. Во-вторых, ключевым фактором для определения ТХП в моче является степень дизагрегации его молекулы, максимальная величина которой проявляется в щелочной среде. В этих условиях резко увеличивается количество участков взаимодействия со специфическими антителами, используемыми в анализе [23, 26]. Однако в некоторых ситуациях, например, при сдвиге pH в кислую сторону у больных нефролитазом, усиливается агрегация молекул ТХП [23, 24]. В результате активируется флокуляция и увеличивается адгезия молекул на клетках уротелия, что приводит к уменьшению выделения с мочой детектируемого ТХП [23, 27, 28]. Таким образом, можно обозначить pH

как первый важнейший фактор регуляции экскреции ТХП.

Кроме того, было установлено, что уровень почечной экскреции ТХП напрямую зависит от скорости клубочковой фильтрации. Выяснилось, что величина ТНР/Сг (отношение ТХП к креатинину) подвержена гендерным колебаниям. Так, у здоровых женщин показатель ТНР/Сг был значительно больше, чем у женщин, страдающих МКБ, равно как у здоровых и больных мужчин [23, 25]. Кроме того, была показана корреляция суточной экскрецией ТХП с параметрами тела человека [23]. Авторы последнего исследования отметили, что у здоровых женщин продуцируется гораздо больше ТХП относительно параметров тела и показателей функции почек, чем у здоровых мужчин и больных с МКБ. Нам представляется, что этому факту можно найти вполне логичное объяснение. Как уже отмечалось [14], очень близкую структуру с ТХП имеет белок уромодулин, выделяемый с мочой беременных женщин. Возможно, повышенная продукция ТХП у женщин является эволюционно сформировавшимся защитным механизмом, направленным на предотвращение камнеобразования в условиях мощной нагрузки нефрона кальцием, что наблюдается во время беременности. Таким образом, количество ТХП, выделяемого с мочой, напрямую зависит от функционального состояния почек, параметров тела и половой принадлежности.

Большой интерес представляют возможные регуляторные функции ТХП, вытекающие из его локализации. Напомним, что указанный гликопротеин располагается преимущественно в клетках толстого восходящего отдела петли Генле. Поэтому возникли предположения относительно возможных взаимодействий ТХП с локализованными здесь транспортными системами. И действительно, имеются экспериментальные данные, подтверждающие эти предположения. Установлено, например, что антенатальная форма синдрома Бартера сопровождается абсолютным дефицитом содержания ТХП как внутри клеток, так и в моче [29, 30]. Как известно, синдром Бартера развивается в результате мутации Na^+ , K^+ 2 Cl^- -котранспортера (НКСС), располагающегося на люминальной мембране клеток толстого восходящего отдела петли Генле [31]. Учитывая это, можно предположить, что между транспортером НКСС и ТХП существуют определенные, скорее всего, реципрокные взаимоотношения. Это предположение подтверждается экспериментальными данными. Оказалось, что введение крысам петлевого диуретика фуросемида, который, как известно, блокирует данный симпортер, сопровождается существенным увели-

чением мРНК ТХП [32, 33]. С другой стороны – опыты показали, что при недостатке ТХП существенно увеличивается продукция мРНК целого ряда различных почечных транспортеров. Кроме того, было обнаружено, что при недостатке ТХП снижается клубочковая фильтрация. При этом ТХП-дефицитные мыши не могли концентрировать мочу в нормальной степени, что сопровождалось усилением диуреза, но без существенного увеличения экскреции электролитов [34]. Таким образом, было установлено, что между уровнем продукции ТХП и активностью почечных транспортеров существует определенная связь. Другими исследователями было подтверждено наличие обратного пропорционального зависимости между уровнем экспрессии НКСС2 и количеством ТХП у крыс [35, 36]. С современных позиций эту зависимость можно объяснить следующим образом. Установлено, что котранспортер НКСС2 и ТХП совместно локализируются на так называемых детергент-устойчивых доменах клеточной мембраны. При этом оба они вовлечены в трансмембранный трафик и взаимодействуют друг с другом, а значит, при изменении количества одного может меняться и количество другого [34, 37, 38]. Справедливости ради отметим, что в проблеме взаимодействия ТХП с почечными транспортерами достаточно много пока не ясных моментов. Представляют также интерес взаимоотношения ТХП и антидиуретического гормона (АДГ). Установлено, что снижение синтеза ТХП влечет за собой увеличение активности вазопрессина, и наоборот, активация АДГ сопровождается ослаблением синтеза ТХП [33, 36, 38]. Нельзя, правда, исключать, что уменьшение количества ТХП на фоне вазопрессина может являться лишь следствием стимулирующего влияния последнего на экспрессию котранспортера НКСС [38].

Впервые интерес к ТХП как к молекуле, участвующей в развитии мочекаменной болезни, возник в начале 1970-х годов, когда было обнаружено, что этот гликопротеин в большом количестве присутствует в оксалатных камнях [39, 40]. При этом оказалось, что характер данного присутствия имеет важные отличительные особенности. Во-первых, ТХП является самым представительным компонентом органической матрицы почечных камней [41]. Во-вторых, как известно, с кальциевыми кристаллами в почках могут взаимодействовать макромолекулы, имеющие достаточно большой отрицательный заряд. Чаще всего эти макромолекулы необратимо инкорпорируются в кристалл, становясь частью его органической матрицы [42]. Однако, как показали эксперименты, ТХП далеко не

всегда можно обнаружить в пределах кристалла оксалата кальция [43]. Данное наблюдение указывает на то, что взаимодействие ТХП с кристаллом не является строго необратимым. В любом случае, факт присутствия молекулы ТХП в почечных камнях может трактоваться двояко: это может свидетельствовать как о его стимулирующей, так и о его ингибирующей роли в патогенезе камнеобразования.

В настоящее время значительная часть проводимых экспериментов показывает, что ТХП является одним из важнейших ингибиторов камнеобразования. Во-первых, ингибирующую способность нормального ТХП (уточнение «нормальный» имеет важное значение, смысл которого будет раскрыт ниже) достаточно наглядно демонстрируют опыты по изучению процессов кристаллизации *in vitro*. Одна из методик базируется на спектрофотометрическом измерении оптической плотности раствора, получающегося при смешивании растворов хлорида кальция и оксалата натрия [44]. Как показывают эксперименты, нормальный ТХП в концентрации порядка 30–40 мг/л ингибирует нуклеацию и особенно (на 76–81%) – агрегацию кристаллов кальция оксалата моногидрата, не уступая по эффективности цитрату [28, 45]. Второй методический подход, касающийся изучения динамики преципитации кристаллов кальция оксалата моногидрата на клеточной культуре MDCK, показал, что ТХП в значительной степени блокирует их адгезию [5]. Аналогичные данные были получены и при исследовании свойств ТХП, выделенного из мочи здоровых людей [46]. Более того, был установлен механизм, с помощью которого ТХП ингибирует нуклеацию и агрегацию кристаллов СаОх. Имея большой отрицательный поверхностный заряд, он взаимодействует с положительно заряженными частями кристаллов, создавая своеобразное покрывало. В результате такие кристаллы не способны прикрепляться к клеткам почечной ткани и выводятся с мочой [5, 46]. Подтверждение этих результатов было получено и в экспериментах *in vivo*. Так, ТХП-нокаутные мыши не могли противостоять камнеобразованию на фоне этиленгликолевого нефролитиаза [47].

Переходя к клиническим наблюдениям, отметим, что еще в 1981 г. впервые был зафиксирован факт снижения экскреции ТХП при нефролитиазе [48]. Похожие исследования были проведены спустя 13 лет в медицинском центре Нового Орлеана (США). В экспериментах были задействованы 53 пациента с оксалатным нефролитиазом и 22 здоровых добровольца. Оказалось, что у больных за сутки экскретировалось с мочой значительно мень-

ше ТХП и пропорционально снижалась способность мочи предотвращать агрегацию кристаллов кальция оксалата [49]. В другой работе подтвердилось, что почечная экскреция ТХП у здоровых людей превышает таковую у больных МКБ [50]. Подчеркнем, однако, одну важную деталь – практически ни в одном исследовании не выявлено существенных различий в абсолютных цифрах экскреции ТХП у больных и здоровых людей. Дифференциация проявлялась только тогда, когда показатели выделения ТХП с мочой соотносились с экскрецией креатинина. С одной стороны, данное наблюдение еще раз подтверждает факт зависимости экскреции ТХП от функционального состояния нефрона, как это уже отмечалось выше [23]. Но, с другой стороны – показывает, что в условиях нефролитиаза не наблюдается количественных изменений почечной экскреции ТХП. Фиксируемые относительные изменения, по-видимому, являются лишь следствием изменений функции почек. Почему же тогда ингибирующая способность мочи в отношении камнеобразования в условиях нефролитиаза существенно снижается? Логично было предположить, что причина утраты протеином Тамма–Хорсфалла своих ингибирующих свойств может заключаться не в количественных, а в качественных изменениях его структуры. Подтверждения этой идеи появились в начале 1990-х годов [51]. А впервые серьезные доказательства этого были получены в 1994 г.

Группа немецких и швейцарских ученых провела исследование структурных различий ТХП, выделенного из мочи 12 здоровых добровольцев и 11 людей с подтвержденным диагнозом «нефролитиаз». Оказалось, что нормальный ТХП (нТХП) имеет гораздо более высокую степень сиализации, чем патологический ТХП (пТХП). Количество сиаловой кислоты в нТХП равнялось 51 ± 9 г/кг, тогда как пТХП содержал лишь 21 ± 4 г/кг данного субстрата [41]. Учитывая, что других структурных различий выявлено не было, возникло предположение, что именно уменьшение степени сиализации является причиной того, что пТХП теряет свои ингибирующие свойства и даже становится стимулятором камнеобразования. Параллельно в Нидерландах были идентифицированы различия величин поверхностного заряда и размеров молекул нТХП и пТХП [52]. Было установлено, что пТХП может подвергаться флокуляции и образовывать большие гелеподобные частицы. Эти частицы, осевшие на клетках уротелия, выступают в качестве нуклеатора кристаллизации и, более того, действуя подобно клею, создают «ловушку» для протекающих по каналцу кристаллов, стимулируя их

агрегацию [27, 45]. Описанные результаты подтвердились в экспериментах *in vitro*. В любых концентрациях пТХП стимулировал агрегацию кристаллов оксалата кальция [45].

Таким образом, в утрате протеином Тамма–Хорсфалла своих ингибирующих свойств решающее значение имеет модифицирование его молекулы. Точные причины этого модифицирования остаются неизвестными. Возможно, пТХП образуется вследствие дефекта ферментов, участвующих в процессе синтеза олигосахаридных цепей. Это может происходить, например, при хронической алкогольной интоксикации, когда существенно возрастает количество асиалотрансферин-гликоформ [53]. Кроме того, некоторые врожденные заболевания сопровождаются генетически обусловленными нарушениями функционирования гликозидаз и гликозилтрансфераз, что может свидетельствовать о важном значении наследственности в патогенезе мочекаменной болезни [54]. Весьма интересными представляются данные, демонстрирующие роль оксидативного стресса в модификации ТХП [55]. От себя добавим еще одно предположение: не исключено, что определенное значение в образовании пТХП могут иметь вирусные инфекции. Широко известно, что многие вирусы используют в процессе репродукции фермент нейраминидазу. Вполне возможно, в результате вирусной «атаки» на почки ТХП, обладающий способностью ингибировать геммагглютинацию вирусов [6], нейтрализует нейраминидазу, но сам при этом теряет часть сиаловой кислоты, трансформируясь в пТХП.

Протеин Тамма–Хорсфалла является одним из основных ингибиторов камнеобразования. По-видимому, механизм его действия заключается в создании вокруг кристаллов оксалата кальция защитного «покрывала», предотвращающего их адгезию к клеткам уротелия. Однако в некоторых патологических условиях происходит модификация ТХП, приводящая к утрате значительной части сиаловой кислоты. Как следствие, ТХП не способен проявлять ингибирующие свойства и даже может становиться стимулятором камнеобразования, что, возможно, является одним из пусковых механизмов развития нефролитиаза.

Остеопонтин

Остеопонтин (OPN), мультифункциональный фосфорилированный гликопротеин, впервые был выделен из костного матрикса быка в 1985 г. шведскими исследователями A.Franzen и D.Heinegard из отделения физиологической химии университета Лунда [56]. Вскоре этими же авторами была установлена первичная структура полученного сиалопротейна, который получил название «остеопон-

тин». Предложенное название подразумевает, что протеин является продуктом клеток костного матрикса и что он образует в матриксе мостики (от латинского «pons») между клетками и минералами [57]. За истекшие почти два с половиной десятилетия опубликовано более 1000 работ, посвященных этому гликопротеину, однако его роль в организме выяснена далеко не до конца.

Остеопонтин (OPN) представляет собой отрицательно заряженный кислый фосфорилированный гликопротеин, который состоит приблизительно из 300 аминокислот с очень высоким содержанием остатков аспарагиновой (48) и глутаминовой (27) аминокислот. Важной особенностью строения OPN является наличие интегрин-связывающей последовательности RGD (Arg-Glu-Asp). Кроме того, установлено, что OPN является лигандом некоторых вариантов рецептора CD44. Аминокислотная последовательность OPN содержит также 42 сериновых и 14 треониновых остатков [57–66]. Молекулярная масса изоформ OPN колеблется в зависимости от степени посттрансляционных модификаций протеина от 40 до 70 kDa [67].

Выяснилось, что остеопонтин продуцируется не только костной тканью, но и многими другими органами, включая почку, легкие, печень, мочевой пузырь, поджелудочную и молочную железы [68, 69]. Экспрессия протеина была также продемонстрирована *in vitro* и *in vivo* в клетках гладкой мускулатуры и в макрофагах [70–72], а присутствие OPN было выявлено в таких биологических жидкостях организма, как кровь, моча, молоко, жидкость внутреннего уха [64, 73–75]. Более того, в зависимости от цели исследования и локализации экспрессии один и тот же гликопротеин встречается под различными названиями: «крысиный костный сиалопротейн I» [57], «2 ar» [76], «Eta-1» [77], «уропонтин» [78], «протеин мочевого камня» [79]. Все это указывает на полифункциональность описываемого протеина [80, 81]. И действительно, оказалось, что остеопонтин играет важную роль в регуляции целого ряда физиологических и патологических процессов. Получены неопровержимые свидетельства участия OPN в модулировании воспаления, репарации, нейропротекции, туморогенеза, хемотаксиса и апоптоза [64, 82–91].

Но важнейшее значение, без сомнения, имеет участие остеопонтина в процессе биоминерализации. В норме биоминерализация является тонко регулируемым физиологическим процессом и ограничена у млекопитающих костной и зубной тканью. Показано, что в ходе нормальной минерализации костей OPN обеспечивает дифференцировку и рекрутирование остеокластов, а также

ингибирует образование и развитие гидроксиапатита [92–95]. Кроме того, имеются свидетельства вовлечения OPN в процесс костной резорбции. Так, нокаутные мыши, лишенные OPN, в значительной мере защищены от потери костной ткани, индуцированной овариэктомией [96].

Участие остеопонтина в процессе биоминерализации подтверждается и тем, что экспрессия протеина в значительной степени зависит от уровня гормонов, регулирующих содержание кальция в организме [97–101].

Особую роль играет участие остеопонтина в ходе патологической минерализации. Этот процесс, называемый эктопической, внескелетной или дистрофической кальцификацией, подразумевает отложение кальциевых солей в мягких тканях с развитием впоследствии целого ряда нежелательных эффектов. При определенных патологических условиях в результате повреждения, возраста, метаболического дисбаланса эктопической кальцификации могут подвергаться кровеносные сосуды, сердечные клапаны и почка. Эктопическая кальцификация часто выявляется у лиц с атеросклерозом, сахарным диабетом, терминальной стадией почечной болезни и, как правило, определяет неблагоприятный исход заболевания [102–106]. При этом у больных с дистрофической кальцификацией очень часто обнаруживается резко повышенная экспрессия остеопонтина [107–111]. Эти наблюдения указывают на возможную ингибирующую роль остеопонтина в отношении эктопической кальцификации. Высказанное предположение нашло подтверждение в экспериментах *in vitro* с использованием модели кальцификации клеток гладкой мускулатуры сосудов, в которых OPN подавлял указанный процесс [112].

Первые данные о почечной экспрессии остеопонтина были получены на почках грызунов. При этом OPN был идентифицирован в почках мышей и крыс как в норме [76, 113–115], так и в условиях почечной патологии [116–119]. Отметим, что в большинстве экспериментов наибольшая экспрессия остеопонтина выявлялась в эпителии петли Генле, дистальных канальцев, собирательных трубок и папиллярной поверхности [79, 114, 117, 120, 121]. В первых исследованиях, посвященных изучению почки человека, локализация мРНК соответствующего протеина была определена в дистальных канальцах, собирательных трубках и в эпителии почечной лоханки. В фундаментальном исследовании с использованием современных методических подходов проанализировали экспрессию мРНК и протеина OPN в различных отделах фетальной и зрелой почек человека [122]. Оказа-

лось, что почечная экспрессия остеопонтина проявляется, начиная с 75–80-го дня внутриутробного развития, растет с увеличением срока беременности и сохраняется на высоком уровне в зрелом возрасте. В нормальной зрелой почке человека OPN локализован преимущественно в дистальных отделах нефрона, в наибольшей степени – в восходящем отделе петли Генле. В случаях проявления фокального интерстициального фиброза, сочетающегося с накоплением макрофагов в интерстиции, экспрессия OPN была значительно усилена во всех сегментах нефрона, включая проксимальные канальцы [122].

Сегодня господствует точка зрения, согласно которой основная роль почечного остеопонтина состоит в предотвращении образования камней почек, состоящих преимущественно из оксалата кальция и гидроксиапатита. Такой эффект четко продемонстрирован в экспериментах *in vitro*. В опытах с использованием различных клеточных модельных систем показано, что остеопонтин ингибировал нуклеацию, агрегацию и рост кристаллов оксалата кальция [78, 123–127]. Так, было зафиксировано 50% ингибирование агрегации кристаллов CaOx при добавлении 28 ± 4 нмоль/л мочевого остеопонтина, а 50% подавление роста кристаллов происходило при использовании уже 16 ± 2 нмоль/л. При этом указанные концентрации OPN были значительно ниже тех, которые определяются в нормальной моче [128]. Одновременно было установлено, что описываемый гликопротеин прямо ингибирует связывание кристаллов CaOx с культивируемыми клетками почечного эпителия, а экспозиция почечных клеток с кристаллами кальция оксалата моногидрата стимулирует продукцию OPN [129, 130].

Полученные *in vitro* результаты нашли свое подтверждение в экспериментах *in vivo*. Косвенные данные, указывающие на возможную ингибирующую роль остеопонтина, были получены на моделях нефролитиаза у крыс. У этих животных отложение кристаллов оксалата кальция происходило параллельно с повышением экспрессии протеина OPN и его мРНК. Причем повышенная экспрессия регистрировалась именно в тех отделах нефрона, где происходил процесс кристаллизации [131–134]. Наиболее убедительные свидетельства *in vivo* получены в экспериментах на нокаутных животных. Так, у мышей с делецией гена OPN на фоне приема этиленгликоля наблюдали образование кальций-оксалатных камней, в то время как у обычных мышей этого не происходило [135–137]. При этом у нормальных мышей развитие гипероксалатурии сочеталась с увеличением в 2–4 раза по-

чечной экскреции остеопонтин. Полученные результаты позволили цитируемым авторам сделать вывод о том, что остеопонтин играет ключевую ренопротективную роль *in vivo* в качестве ингибитора образования кристаллов СаОх. Подобным образом в другом исследовании 10% мышей, лишенных OPN, спонтанно образовывали почечные камни, а в условиях индуцированной гипероксалурии число таких животных возрастало до 65% [138].

Роль остеопонтин в патогенезе мочекаменной болезни у человека в силу отсутствия адекватных методик выяснена недостаточно. И все же отметим два важных момента в пользу ингибирующего воздействия OPN на образование почечных камней. Первый: в ряде клинических исследований показано значительное снижение содержания остеопонтин в моче пациентов, страдающих МКБ, в сравнении со здоровыми людьми [139–142]. Справедливости ради отметим, что не во всех исследованиях были зарегистрированы подобные различия [143–145]. Второй важный момент состоит в наличии единичных мутаций гена OPN, которые обнаружены у значительно большего числа пациентов с нефролитиазом по сравнению с лицами без МКБ [146, 147]. Таким образом, в целом можно считать установленным, что остеопонтин играет ингибирующую роль в процессе кристаллизации солей оксалата кальция и препятствует образованию почечных камней.

Анализируя особенности строения остеопонтин, очевидно, что его молекула содержит ряд доменов, определяющих мультифункциональность этого гликопротеина. С одной стороны – это уже упоминавшаяся аминокислотная последовательность RGD (Arg-Gly-Asp), обеспечивающая его активное интегрин-зависимое связывание с клетками. Этому же способствует связывание через мотив SVVYGLR, а также взаимодействие с известным рецептором CD44, чувствительным к гиалуронану [65, 136, 148]. С другой стороны – OPN имеет достаточно возможностей для связывания с поступающими в мочу ионами кальция, что обуславливает нарушение нуклеации, агрегации и роста кальциевых кристаллов. Способность остеопонтин связывать кальций обеспечивается целым рядом причин. Во-первых, наличием большого количества электроотрицательных аминокислотных остатков, в первую очередь – аспарагиновой и глутаминовой кислот. Так, на 50 остатков аспарагиновой кислоты, собранных в кластеры вблизи N-терминального конца, приходится от 20 до 25% величины молекулы OPN. Между тем, установлено, что протеины, богатые аспарагиновой кислотой, тесно связаны с процессом минерализации во

многих органах и тканях [78, 149]. Так что высоко насыщенные анионами участки молекулы OPN, составленные из остатков кислых аминокислот, по-видимому, определяют потенциальные места связывания Ca^{2+} . Эти анионные регионы дают возможность остеопонтину образовывать растворимые комплексы с ионами Ca^{2+} и посредством этого ингибировать отложение и кристаллизацию кальциевых солей [67]. И действительно, добавление аспарагиновой кислоты в экспериментах *in vitro* сопоставимо с OPN подавляло рост кристаллов кальция оксалата моногидрата и гидроксиапатита [150, 151]. Относительно роли глутаминовой кислоты существует мнение, что ее присутствие в молекуле остеопонтин определяет, скорее, изменение величины и формы образующихся кристаллов [152, 153].

Вторым моментом, определяющим активность остеопонтин вообще и его способность связывать ионы Ca^{2+} в частности, является степень фосфорилирования молекулы этого гликопротеина. Здесь уместно привести ряд наблюдений, не укладывающихся в общую концепцию остеопонтин как ингибитора кристаллизации. В цикле работ японских исследователей из университета Осаки остеопонтин позиционируется как промоутер кристаллизации и формирования кальций-оксалатных почечных камней [154]. В экспериментах *in vitro* был продемонстрирован повышенный аффинитет кристаллов СаОх к эпителию клеточной линии дистальных почечных канальцев (почки собак Madin-Darby, MDCK), когда они инкубировались с остеопонтин [155, 156], и получены косвенные свидетельства повышенной адгезии кристаллов оксалата кальция на канальцевых клетках [157]. Кроме того, в этой же лаборатории было установлено, что ингибирование синтеза OPN подавляло осаждение и агрегацию кристаллов СаОх на почечных клетках крыс, как и добавление поликлональных антител к остеопонтину [156, 158]. И наконец, недавние эксперименты на нокаутных мышах показали, что у животных, лишенных OPN, под влиянием гликоксалата образовывалось значительно меньше кристаллов оксалата кальция, чем у нормальных мышей [159].

Как совместить эти противоречивые результаты до конца не ясно, однако появляется все больше свидетельств, указывающих на то, что ключ к разгадке этих интригующих различий лежит в области посттрансляционных изменений протеина OPN. Установлено, что полипептидная последовательность остеопонтин подвергается обширным посттрансляционным модификациям, включая фосфорилирование, гликозилирование и сульфатирова-

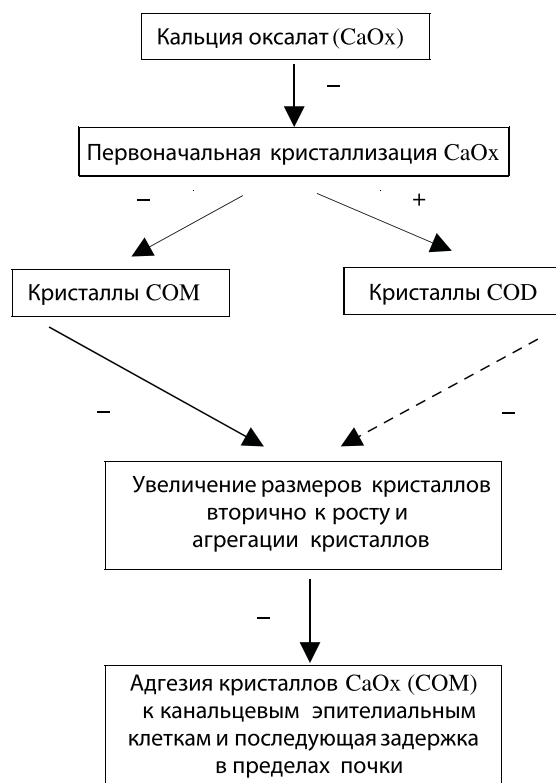
ние. Причем эти модификации варьируются в зависимости от вида животного и типа ткани [160–162]. Как уже отмечалось, в структуре OPN содержится значительное количество сериновых и треониновых остатков, которые представляют собой подходящие места для фосфорилирования. Была предложена гипотеза, согласно которой, чем большее количество таких остатков подвергается фосфорилированию, тем большую активность по ингибированию кристаллизации демонстрирует молекула OPN. Иными словами, вариации фосфорилирования молекулы остеопонтина существенно регулируют процесс минерализации [75]. Выдвинутая гипотеза получила многочисленные подтверждения. Например, дефосфорилирование молекулы остеопонтина приводило к ослаблению его способности подавлять рост кристаллов гидроксиапатита *in vitro* [92, 163–165]. В другом исследовании искусственно воспроизведенные фосфорилированные молекулы остеопонтина в концентрации 200 нмоль/л на 50% ингибировали рост кристаллов кальция оксалата моногидрата, в то время как дефосфорилированные молекулы OPN не обладали такой способностью [166]. Отметим также предположение, согласно которому более полно фосфорилированный пептид в процессе взаимодействия с кальциевыми депозитами подвергается легкому конформационному изменению, повышая посредством этого аффинитет к зонам роста кристалла [75, 167]. Как бы там ни было, комбинация большого числа остатков аспарагиновой и глутаминовой кислот, значительного количества мест для фосфорилирования и наличия предполагаемых кальций-связывающих мотивов, по-видимому, обеспечивает способность остеопонтина активно связывать ионы Ca^{2+} . По некоторым данным, величина этого связывания составляет 50 моль кальция на 1 моль OPN. Согласно другим расчетам, при концентрации Ca^{2+} 1–2 ммоль/л занятыми оказывается 25 из 50 потенциальных мест связывания в молекуле остеопонтина, а полная их оккупация происходит при концентрации Ca^{2+} на уровне 5–10 ммоль/л [80, 168]. Кроме того, возможно анионные свойства OPN, как и в случае с протеином Тамма–Хорсфалла, обеспечивают образование на поверхности кальций-содержащих кристаллов своеобразное «покрывало», что задерживает дальнейший рост и пролиферацию последних [167].

Этим, однако, механизм действия остеопонтина не исчерпывается. Эксперименты *in vitro* показали, что некоторые белковые макромолекулы, в том числе и остеопонтин, ингибируют рост кристаллов кальция оксалата моногидрата (COM), направляя кристаллизацию по пути образования каль-

ция оксалата дигидрата (COD) [126]. Исследование, позднее проведенное в этой же лаборатории с использованием нокаутных животных, показало, что в почечных канальцах мышей с делецией гена OPN задерживались исключительно кристаллы COM [137]. 1992; Denhardt, Guo, 1993/.50 потенциальных мест связывания в молекуле остеопонтина изменению. Давно известно, что наиболее термодинамически стабильная форма оксалата кальция COM является основным ингредиентом почечных камней, примерно вдвое превосходя содержание COD [169]. По неизвестным пока причинам COD имеет значительно более низкую способность образовывать в моче крупные агрегаты кристаллов и формировать прочные адгезивные контакты с клетками почечного эпителия. Поэтому конечная моча часто содержит отдельные микрорекристаллы COD, изначально неспособные к активной агрегации и адгезии в пределах канальцев. Это позволяет считать образование кристаллов кальция оксалата дигидрата защитным процессом в условиях мочекаменной болезни [170]. По крайней мере, осаждение из одних и тех же порций мочи различных форм кристаллов оксалата кальция с помощью манипулирования концентрациями Ca^{2+} в окружающей среде показало, что преципитация COM происходила при содержании Ca^{2+} 2 ммоль/л, а COD – 7 ммоль/л [171].

Факт различного влияния белковых макромолекул на процесс кристаллизации хорошо известен в природе и носит название «кристаллический полиморфизм». Он обеспечивает, например, вариативность форм кристаллов кальция карбоната в различных раковинах моллюсков. Основа и механизмы возникновения кристаллического полиморфизма неизвестны, но для нас важным является то, что протеины, влияющие на этот процесс, как правило, являются полианионами, причем многие богаты мономерами аспарагиновой кислоты [149, 172]. Так что, по-видимому, такой эффект остеопонтина не должен вызывать чрезмерного удивления. Что касается более высокой адгезивности кристаллов COM, этот вопрос также не выяснен. Возможно, это зависит от большего содержания в структуре COM фосфолипидных групп, в первую очередь фосфатидилсерина, известного стимулятора кристаллизации [173]. Кроме того, давно существует предположение о том, что различия в порядке расположения молекул воды в кристаллических решетках COM и COD, а также в величине заряда их поверхности обуславливают особенности их взаимодействия с адсорбентом и мембранолитические свойства COM [174–177].

На основе описанных механизмов действия



Один из предполагаемых механизмов действия остеопонтина (по J.A. Wesson et al., 2003). – Ингибирование остеопонтином; + Стимулирование остеопонтином.

остеопонтина рядом исследователей была предложена гипотетическая схема, отражающая его ингибирующий эффект в отношении образования кальций-оксалатных камней почек [136, 137].

В последние годы благодаря активным усилиям австралийских исследователей группы R.L.Ryall разрабатывается новая идея дополнительного механизма действия белковых макромолекул, в том числе и остеопонтина, по ослаблению процесса мочевой кристаллизации. Проводимый с использованием современных методов анализ почечных конкрементов показал наличие в них, кроме неорганической структуры, большого количества органических включений, главным образом протеинов. Некоторые из них остаются пока неидентифицированными, другие – являются неперенным атрибутом воспалительного процесса, третьи – представляют собой рассматриваемые здесь защищающие от нефролитиаза макромолекулы [178–182]. Среди последних детектированы и остеопонтин [171, 183–185]. M.C.Chauvet и R.L.Ryall культивировали почечные клетки в условиях добавления трех типов кристаллов оксалата кальция: COM_i , содержащих только неорганическую фракцию кристалла; COM_{CF} , преципитированных из нормальной центрифугированной и профильтрованной мочи человека, и COM_{UF} , осажденных из мочи, подвергнутой ультрафильтрации и содержащих протеины, не

превышающие 10 kDa [186]. Оказалось, что наиболее активно прикреплялись к клеткам кристаллы COM_i , менее активно – COM_{UF} и наименьшей адгезивностью обладали кристаллы COM_{CF} . Затем с помощью сканирующей электронной микроскопии определили, что последний тип кристаллов наиболее быстро (в течение 2 мин) поглощался клетками и подвергался быстрой и полной деструкции в течение 60 мин, в то время как кристаллы COM_{UF} значительно медленнее интернализировались и деградировали. Полученные результаты позволили авторам выдвинуть следующую гипотезу. По-видимому, мочевые протеины могут играть двойную протективную роль. Первая: за счет инкорпорирования в кристаллы они снижают аффинитет последних к почечным клеткам. Вторая: облегчают внутриклеточную деструкцию кристаллов после их поглощения почечными клетками [171, 179, 180, 186]. В другом исследовании эти же авторы изучали скорость растворения меченных по [^{14}C] кристаллов оксалата кальция в культуре клеточной линии почек MDCK II при добавлении возрастающих концентраций экстракта, полученного из матрикса кристаллов COM [187]. Оказалось, что повышение концентрации экстракта приводило к пропорциональному уменьшению размеров кристаллов и к увеличению выхода радиоактивной метки в культуральную среду. Полученные результаты подтвердились данными сканирующей электронной микроскопии и явились очередным свидетельством участия внутрикристаллических протеинов в деградации и растворении кристаллов CaOx.

Каков механизм обнаруженного эффекта? По мнению приведенных авторов, события разворачиваются следующим образом. Проникновение белковых макромолекул в кристалл создает определенные дефекты в его структуре и повышает напряжение кристаллической решетки, что делает образовавшуюся структуру более чувствительной к протеолитическому воздействию лизосомальных энзимов. Через своеобразные каналы, пронизывающие кристалл, создаваемые и заполненные протеинами, протеазы проникают в структуру кристалла, что способствует его деструкции и последующему растворению [187]. Что касается ферментативной активности, в эпителии различных отделов почечных канальцев выявлен целый набор протеаз, способных осуществить описанный эффект [188–191]. При этом не исключено, что в процессе деградации кристаллов принимают участие лизосомальные энзимы не только почечных клеток, но и окружающих макрофагов и мультинуклеарных гигантских клеток, которые способны по-

глощать микрокристаллы [192–196]. По крайней мере, кристаллы оксалата кальция были зафиксированы внутри фаголизосом культивируемых макрофагов, так же как и в лизосомах почечных клеток *in vivo* и *in vitro* [194, 197, 198]. По-видимому, фагоцитирование кристаллов, прикрепленных к клеточным мембранам, следует за образованием фаголизосом, чья внутренняя среда, имеющая кислый pH и содержащая комплекс лизосомальных протеаз, создает идеальные условия для разрушения кристалла. Протеазы расщепляют протеиновую фазу кристалла, образуя за счет этого дефекты в минерале, что должно увеличить площадь его поверхности и облегчить растворение кристалла в кислой среде [187].

Учитывая отмеченную роль кислой среды в растворении кристаллов, нельзя не остановиться на очередной интересной гипотезе, имеющей прямое отношение к рассматриваемому вопросу. Нокаутным мышам, лишенным нормального гена остеопонтина, подкожно имплантировали фрагменты аортальных клапанов для изучения эктопической кальцификации [167]. Оказалось, что процесс кальцификации клапанов у нокаутных мышей в 4–5 раз превосходил таковой у нормальных животных. Авторами было предположено, что OPN не только ингибирует отложение кристаллов, но и активно стимулирует их растворение. Последнее авторы связывают с тем, что, как установлено в эксперименте, остеопонтин стимулирует индукцию энзима карбоангидразы II, катализирующего, как известно, внутриклеточное образование угольной кислоты из двуокиси углерода. В приведенных экспериментах экспрессия карбоангидразы II резко повышалась в макрофагах и многоядерных гигантских клетках, окружающих имплантаты. Это обусловило повышенное образование угольной кислоты, диссоциация которой резко увеличивала внутриклеточное содержание ионов водорода. Выброс протонов из клетки с помощью вакуольной H⁺-АТФазы приводит к подкислению окружающей среды, что, в свою очередь, создает условия для растворения кристаллов. Важным является тот факт, что активность карбоангидразы четко коррелировала как со степенью минерализации имплантата, так и с уровнем остеопонтина в образовавшихся кристаллах апатита. Это позволило авторам высказать предположение, согласно которому OPN индуцирует локальную экспрессию карбоангидразы в окружающих макрофагах и гигантских клетках, что способствует деструкции образующихся кристаллов за счет ацидификации окружающей микросреды [167]. Вполне вероятно, что аналогичный процесс происходит и в почках и является одним из

способов защиты от эктопической кальцификации. От себя добавим, что, возможно, подавление описываемого процесса лежит в основе хорошо известного факта образования почечных камней под влиянием ингибитора карбоангидразы ацетазоламида [199].

Суммируя приведенные данные, отметим, что гликопротеин остеопонтин является важной макромолекулой, модулирующей процесс эктопической кальцификации в почке. Ингибирующий эффект остеопонтина, по-видимому, обусловлен как способностью связывать кальциевые микрокристаллы, нарушая их контакт с клетками почечного эпителия, так и активацией процесса деградации и последующего растворения кристаллов. Ингибирующая активность остеопонтина зависит от уровня его посттрансляционной модификации и, в первую очередь, от степени фосфорилирования его молекулы.

Бикунин

В начале 1960-х годов из плазмы крови человека был выделен, очищен и идентифицирован новый трипсиновый ингибитор. По результатам электрофореза на бумаге протеин получил название «интер-альфа-трипсиновый ингибитор» [200, 201]. Однако впоследствии, исходя из того, что в норме трипсин в плазме крови отсутствует, название было редуцировано до «интер-альфа-ингибитор» (IαI), хотя и первое до сих пор встречается в литературе [202]. Вскоре выяснилось, что семейство интер-альфа-ингибиторов включает целый ряд внеклеточных протеинов, которые являются важными модуляторами состава внеклеточного матрикса различных органов [203].

Изучение строения интер-альфа-ингибитора показало, что он состоит из трех полипептидных цепей: двух тяжелых с молекулярной массой около 80 kDa каждая, названных HC1 и HC2, и легкой цепи (30–40 kDa), получившей название «бикунин». Тот же бикунин, как оказалось, является структурным элементом другого близкого протеина, в состав которого входит также одна тяжелая цепь (HC3), гомологичная таковой в IαI. Этот новый плазменный протеин получил название «пре-альфа-ингибитор» [204–207]. В обоих отмеченных протеинах семейства интер-альфа-ингибиторов бикунин несет хондроитин сульфатную цепочку, с помощью которой ковалентно связывается с тяжелыми цепями. Кроме того, молекула бикунина содержит два домена типа Кунитца, имеющих важное значение в механизме действия протеинов. Выяснилось также, что оба протеина обладают мощным антипротеазным действием, ингибируя активность трипсина, химотрипсина, катепсина,

эластазы, плазмина, калликреина, а также ряда факторов каскада свертывания крови [208–214]. Показано, что ингибирующая способность обусловлена, главным образом, наличием бикунина [215]. Это, в конечном счете, и определяет функциональную роль описываемых протеинов. Было установлено, что бикунин предотвращает инвазию и метастазирование раковых клеток, обеспечивает процесс нормальной овуляции и оплодотворения, регулирует продукцию цитокинов, интенсивность воспалительной реакции, внутриклеточное содержание кальция. Относительно роли тяжелых цепей протеинов семейства IαI существует мнение, что они образуют связи с гиалуроновой кислотой и за счет этого стабилизируют внеклеточный матрикс различных органов [202, 213, 216–219].

В контексте обсуждаемой здесь проблемы большое значение имеет бесспорный факт ингибирующего воздействия бикунина на процесс образования кальций-оксалатных камней почек. В этой связи отметим два важных момента. Первый: установлено, что бикунин встречается не только в составе интер-альфа-ингибиторов, но и в свободном состоянии в виде отдельных молекул в плазме крови и моче [211, 215, 220–223]. При этом существует точка зрения, согласно которой в связанном состоянии бикунин теряет некоторые виды своей функциональной активности. А его высвобождение при протеолитической деградации протеинов IαI играет роль регуляторного механизма и приводит к восстановлению этих свойств [213]. Второй момент касается происхождения бикунина. Выяснено, что протеины семейства интер-альфа-ингибиторов синтезируются в печени, после чего секретируются в общий кровоток. Вопрос об ином происхождении бикунина на протяжении длительного времени не обсуждался.

В 1993 г. F.Atmani и соавт., исследуя макромолекулы, ингибирующие образование кальциевых мочевых камней, обнаружили в моче гликопротеин, содержащий остатки уроновой кислоты, который был выделен из мочи здоровых лиц, пациентов с мочекаменной болезнью и крыс и получил название «протеин, богатый уроновой кислотой» [220]. Углубленное изучение этого протеина показало, что по молекулярной массе и химической структуре он близок к семейству IαI [222, 224, 225]. Но еще до этого S.Sorensen и соавт. изолировали из нормальной человеческой мочи неидентифицированный протеин с молекулярной массой около 40 kDa, близкий к интер-альфа-ингибиторам, кристаллизаций оксалата кальция [226]. В специальном исследовании проведен всесторонний сравнительный анализ протеина, богатого уроновой кислотой, и бикунина [227].

Результаты показали следующее: 1. Секвенирование молекул выявило идентичность первых 25 аминокислотных остатков у N-терминального конца. 2. Western blotтинг с использованием поликлональных антител к бикунину иммунологически подтвердил факт выявленной идентичности. 3. У обоих протеинов зарегистрирована ингибирующая активность в отношении кристаллизации оксалата кальция. Был сделан вывод о том, что протеин, богатый уроновой кислотой, является бикунином, который в почке подавляет процесс кристаллизации CaOx. Интересно, что молекулярная масса изученных протеинов не совпала. Если у «классического» бикунина этот показатель был равен 45 kDa, то у сравниваемого протеина молекулярная масса составила 35 kDa. Это позволило авторам сделать вывод о двух мочевых бикунинах 35 и 45 kDa. Различие между ними, вероятно, обусловлено особенностями происхождения. Возможно, что один из них изначально находился в плазме крови в составе протеина из семейства IαI, а второй – в свободном виде. В процессе протеолитического расщепления первого могли произойти незначительные модификации, обусловившие его отличие от второго [227]. Не исключено, что и известный ингибитор мочевой кристаллизации нефрокальцин так же аналогичен HI-14, известному фрагменту бикунина [223]. По крайней мере, выявлены идентичность их молекулярной массы, последовательности первых 20 аминокислотных остатков и сопоставимая ингибиторная активность в отношении кристаллизации оксалата кальция.

Возвращаясь к происхождению мочевого бикунина, сегодня можно считать установленной возможность его образования не только в печени, но и при определенных условиях – в почках. По крайней мере, у крыс с экспериментальным кальций-оксалатным нефролитиазом почечная экспрессия мРНК бикунина после 8 нед потребления этиленгликоля в 17 раз превосходила исходный уровень [228]. Авторы связывают этот эффект с гипероксалурией и повреждающим провоспалительным действием оксалата кальция, провоцирующими образование бикунина. Это хорошо укладывается в известную теорию S.R.Khan, в лаборатории которого было проведено цитируемое исследование, о роли повреждающих факторов, лежащих в основе развития оксалатного нефролитиаза [229, 230]. Не так давно это предположение получило подтверждение в экспериментах на культуре почечных клеток LLC-PK1. Воздействие оксалата приводило к резкому повышению экспрессии этими клетками гена AMBP, кодирующего в том числе и образование бикунина [231].

Приведенные результаты относительно почеч-

ного происхождения бикунина получили подтверждение в целом ряде экспериментальных исследований. Иммуногистохимический анализ почек здоровых крыс показал наличие всех основных протеинов семейства IαI лишь на люминальной поверхности эпителия проксимальных канальцев. В то же время, после 8 нед экспериментальной гипероксалурии положительное окрашивание, указывающее на наличие как интер-альфа-ингибитора, так и бикунина, фиксировалось и в просвете канальцев, и в цитоплазме эпителиальных клеток различных отделов нефрона [232–234]. В другой работе иммуногистохимическое окрашивание продемонстрировало наличие бикунина в эпителии проксимальных канальцев, а также вблизи тонкого нисходящего отдела петли Генле нефрона человека [235].

Способность бикунина существенно ингибировать процесс образования кристаллов CaOx была четко продемонстрирована в экспериментах *in vitro* [224, 227, 233, 236, 237]. Так, на культуре почечных клеток MDCK добавление 10 нг/мл бикунина ингибировало адгезию кристаллов кальция оксалата моногидрата, а концентрация 200 нг/мл полностью подавляла процесс кристаллизации [238]. В другом исследовании присутствие в среде 8 мкг/мл бикунина на 80% ингибировало образование CaOx из хлорида кальция и оксалата аммония, что оценивалось по изменению радиоактивности супернатанта после 60 мин инкубирования [239]. А добавление мочевого бикунина в концентрациях от 2,5 до 20 мкг/мл замедляло нуклеацию образующихся кристаллов на 67 и 58% и ингибировало их агрегацию на 59 и 80% соответственно [240].

Для оценки роли функциональных доменов интер-альфа-ингибиторов в подавлении кристаллизации оксалата кальция исследовали влияние отдельных фрагментов молекулы комплексного протеина, в том числе тяжелых цепей IαI, бикунина, а также карбокси-терминального домена бикунина. Оказалось, что бикунин и его карбокси-терминальный фрагмент эффективно и сопоставимо ингибировали кристаллизацию оксалата кальция. Цельная же молекула IαI оказывала значительно более слабое воздействие [241]. Полученные результаты позволили авторам сделать вывод, согласно которому за угнетение процесса кристаллизации оксалата кальция в почке ответствен, главным образом, карбокси-терминальный домен бикунина.

Соответствуют ли приведенные данные роли бикунина в патогенезе образования оксалатных камней *in vivo* до конца не ясно. Имеющиеся скудные данные часто носят противоречивый харак-

тер и порой с трудом поддаются интерпретации. Так, с одной стороны, протеины семейства интер-альфа-ингибиторов более часто определялись в моче мужчин с оксалатным нефролитиазом, чем у здоровых людей [242]. В соответствии с результатами, полученными на животных, у людей, страдающих оксалатным нефролитиазом, фрагменты IαI фиксировались в эпителии собирательных трубок, тонкого отдела петли Генле и в клетках почечного интерстиция, тогда как у здоровых лиц – только в интерстициальном матриксе почки [243]. С другой стороны – имеются данные, согласно которым средняя концентрация бикунина в моче у 18 здоровых людей была на 50% выше, чем у 31 пациента, страдающего кальций-оксалатным нефролитиазом [239]. Точного ответа, способного привести к консенсусу, пока нет. Тем более, не совсем ясными выглядят здесь причинно-следственные связи. Или увеличение бикунина в моче является, как в случае с экспериментальным нефролитиазом, следствием воздействия гипероксалурии на почечную ткань, или нефролитиаз развивается как следствие недостатка образования в почках бикунина, что и обуславливает усиление кристаллизации. Возможно, ответ следует искать в качественных различиях рассматриваемых протеинов. Так, иммунологическое определение бикунина в моче у 18 пациентов с мочекаменной болезнью и у 77 здоровых контрольных лиц показало, что среднее соотношение мочевого содержания бикунина и креатинина у больных было почти вдвое выше, чем в контрольной группе. Однако Western блоттинг образцов мочи дал весьма неожиданные результаты. Оказалось, что значительно большее количество пациентов с нефролитиазом имело в моче аберрантный бикунин с молекулярной массой 25 kDa (10 из 18 – 55,6%), в то время как среди здоровых лиц таких было лишь 19,5% (15 из 77). Основная же часть образцов мочи людей из контрольной группы содержала «нормальный» бикунин с молекулярной массой 40 kDa [244]. Сравнение этих двух протеинов, проведенное авторами, продемонстрировало, что более мелкие фрагменты (25 kDa) были идентичны дегликозилированному бикунину и проявляли значительно меньшую активность в отношении ингибирования кристаллизации. Так что, вполне возможно, что, как и в случае с остеопонтином, функциональная активность бикунина определяется степенью посттрансляционных изменений его молекулы.

Касаясь механизмов действия бикунина, мы вынуждены ограничиваться исключительно предположениями. Сегодня ясно лишь, что молекула бикунина содержит места, имеющие высокий аф-

финитет к ионам Ca^{2+} . Поэтому вполне можно ожидать, что бикунин осуществляет хелатирование ионов кальция, предотвращая его участие в кристаллизации. Однако это предположение не является единственным.

Не исключено, что молекула бикунина ингибирует связывание Ca^{2+} с кристаллами благодаря электростатическому эффекту, что обусловлено наличием положительно заряженного кластера в карбокси-терминальном домене протеина. Присутствие положительно заряженного протеина изменяет электростатический потенциал поверхности рядом с кристаллами. А это, в свою очередь, отталкивает катионы и может привести к уменьшению локальной концентрации ионов Ca^{2+} [245].

Следующий возможный механизм предполагает связывание бикунина с кристаллами оксалата кальция, что индуцирует определенные изменения структуры кристаллов и их матричных протеинов. Это ведет к изменению организации кристаллической решетки и нарушает обычную кинетику формирования кальциевых кристаллов [241].

В любом случае, точные механизмы, с помощью которых бикунин ингибирует процесс образования кристаллов оксалата кальция, нуждаются в серьезном изучении.

Таким образом, бикунин является одним из протеинов, угнетающих процесс кристаллизации в почках. Являясь частью молекулы протеинов семейства интер-альфа-ингибиторов, а также синтезируясь в нефроне под влиянием гипероксалурии и повышенного содержания оксалата в почках, бикунин нарушает образование полноценных кристаллов оксалата кальция за счет взаимодействия с ионами Ca_{2+} или нарушения кинетики образования кальциевых кристаллов.

Фрагмент протромбина 1

В начале 1990-х годов в ходе исследования состава органической матрицы оксалатных камней было обнаружено, что большая ее часть состоит из некоего белка, который изначально получил название «белок кристаллической матрицы» (БKM) [246]. Значимый вклад в изучение этого протеина внесла группа австралийских исследователей под руководством R.L.Ryall и A.M.Stapleton. В 1993 г. они установили, что последовательность N-терминальных аминокислот белка на 81,8% идентична N-терминалам протромбина [247]. Через год в Японии определили молекулярный вес описываемого протеина – 31 kDa [248]. В этой же работе было показано, что поликлональные антитела к БKM и протромбину проявляли перекрестную чувствительность в ходе Western блоттинга, что позволило сделать вывод – БKM является активи-

рованным пептидом протромбина [248]. В очередном эксперименте индуцировали кристаллизацию оксалата кальция в ультрафильтрате мочи с добавлением плазмы и сыворотки крови, взятых у здоровых людей. Образовавшиеся кристаллы деминерализовывали и проводили исследование белкового экстракта. Анализ показал, что белковая матрица кристаллов, выращенных в ультрафильтрате мочи с добавлением сыворотки крови, содержала значительное количество фрагментов протромбина 1 и 2, один из которых, как показал электрофорез, являлся белком кристаллической матрицы. Затем при использовании стандартных образцов фрагментов протромбина 1 и 2 удалось точно идентифицировать БKM как фрагмент протромбина 1 [249]. Эти результаты были подтверждены и другими исследованиями [250–253]. Таким образом, было установлено, что наряду с остеопонтином, протеином Тамма–Хорсфалла и бикунинном, фрагмент протромбина 1 (ФП1) является структурным компонентом белковой матрицы оксалатных камней. При этом, как и в отношении других протеинов, факт присутствия ФП1 в органической матрице кристаллов может интерпретироваться двояко: либо он является ингибитором камнеобразования, либо, напротив, стимулирует этот процесс.

В настоящее время ФП1 принято считать ингибитором литогенеза, хотя и здесь все не столь однозначно. Первые результаты, позиционирующие ФП1 в качестве ингибитора камнеобразования, были также получены австралийскими исследователями. В условиях экспериментальной кристаллизации в человеческой моче они показали, что ФП1 не влиял на концентрацию ионов оксалата, необходимую для образования кристаллов, но увеличивал количество кальций-оксалатных депозитов. Однако, что принципиально важно, величина этих частиц был значительно меньше обычных и уменьшалась обратно пропорционально содержанию ФП1 в моче. Данное наблюдение продемонстрировало, что ФП1 в первую очередь ингибирует агрегацию кристаллов CaOx . Более того, в дальнейшем удалось зафиксировать зависимое от дозы ФП1 уменьшение депонирования кристаллического материала. Это могло означать, что ФП1 встраивается в архитектуру кристаллов и нарушает их склеивание, что и обуславливает увеличение количества более мелких депозитов [254]. Сравнительное изучение протромбина, тромбина и фрагментов протромбина 1 и 2 на процесс кристаллизации *in vitro* показало, что все эти вещества в определенной степени ингибируют агрегацию кристаллов. Их активность характеризовалась следующей

последовательностью: ФП1 > протромбин > ФП2 > тромбин. Параллельно ^{14}C -оксалатный анализ показал, что ФП1 в наибольшей степени уменьшал так же и количество минеральных депозитов [255, 256]. Исходя из полученных результатов, было сделано предположение, что для антилитогенного эффекта протромбина или продуктов его распада принципиально важно наличие в их структуре домена γ -карбоксиглутаминовой кислоты, который имеется у протромбина и ФП1, но отсутствует у тромбина и ФП2. При этом превосходящий по силе ингибирующий эффект ФП1 в сравнении с протромбином определяется большим по величине соотношением заряда молекулы к ее массе [255, 256]. Так что, согласно современным представлениям, механизм антилитогенного действия ФП1 выглядит следующим образом. За счет значительного количества отрицательно заряженных групп γ -карбоксиглутаминовой кислоты и небольшой молекулярной массы ФП1 связывается с положительно заряженными областями кристаллов оксалата кальция и образует протеиновое «покрывало», препятствуя нуклеации и агрегации кристаллического материала [5, 123, 257, 258].

Тем не менее, ФП1 все же не всегда способен предотвращать развитие нефролитиаза. Прямых экспериментальных доказательств того, что ФП1 может становиться стимулятором камнеобразования, нам не встретилось. Однако есть ряд свидетельств, указывающих на возможные изменения структуры ФП1, ведущие к ослаблению его антилитогенных свойств. Так, в университете Кейптауна (ЮАР) было проведено сравнительное исследование ингибирующей активности ФП1, выделенного из мочи чернокожих и белых людей [259]. Известно, что коренное население африканского континента страдает нефролитиазом гораздо реже, чем белые (1% против 12–15%). Авторы предположили, что данный факт может быть обусловлен межрасовыми различиями состава мочи, в том числе, структурными особенностями ФП. И действительно, эксперименты показали, что ингибирующая активность ФП1 чернокожих людей существенно превышает таковую для ФП1 белых: 46,5% против 31,7%. При этом данный показатель существенно снижался, если указанный белок добавляли в мочу людей другой расы [259]. Учитывая данные наблюдения, было сделано предположение: на антилитогенную активность ФП1 может оказывать влияние состав мочи через изменение конформации гликопротеина. В более поздних экспериментах были изучены структурные различия N-концевых и O-концевых олигосахаридов, выделенных из ФП1 больных МКБ и здоровых людей обеих рас.

Оказалось, что ключевым различием является степень сиализации ФП1. О-гликаны ФП1 обеих контрольных групп и N-гликаны ФП1 здоровых чернокожих людей в значительно большей степени сиализированы по сравнению с таковыми у больных МКБ белой расы [260]. Кроме того, появились сведения о том, что способность ФП1 предотвращать нуклеацию и агрегацию кристаллов определяется степенью гликозилирования молекулы [261].

Интересные данные были получены в экспериментах по изучению кристаллизации в условиях применения непрямого антикоагулянта варфарина [262]. Как известно, варфарин блокирует в печени гамма-карбоксилирование витамин К-зависимых белков, в том числе – фрагмента протромбина 1 [263]. Поэтому возникло предположение, что антикоагулянтная терапия может ослабить ингибирующую активность ФП1. В опытах была изучена способность ФП1 предотвращать кристаллизацию в моче больных, длительно получавших варфарин в связи с кардиохирургическими вмешательствами. Оказалось, что органическая матрица почечных камней, выращенных в этих условиях, в основном содержит слабо карбоксилированные молекулы ФП1. Однако на выраженность антилитогенного эффекта данное обстоятельство практически не влияло. Учитывая сказанное, можно предположить, что наличие правильной последовательности остатков γ -карбоксиглутаминовой кислоты в молекуле ФП1 имеет важное, но не определяющее значение в механизме его ингибирующего действия.

Естественно, что, помимо качественных destruction, молекулы ФП1 на выраженность антилитогенного эффекта могут оказывать влияние количественные изменения его концентрации в моче. Часть молекул ФП1 может попадать в нефрон из крови после распада протромбина. Однако выяснено, что синтез ФП1 осуществляется и непосредственно в нефроцитах, поскольку экспрессия специфической мРНК обнаружена в почке человека [264]. При этом на фоне развития МКБ уровень экспрессии данной мРНК претерпевает существенные изменения, о чем свидетельствуют экспериментальные данные. Исследования показали, что в условиях экспериментального нефролитиаза, вызванного ежедневным потреблением крысами 0,75% раствора этиленгликоля в течение 8 нед, количество мРНК ФП1 снижается на 42% [265]. Правда, установить, что послужило непосредственной причиной этого снижения, не удалось. Существуют сведения, что количество ФП1 в моче и его активность зависят от концентрации ионов кальция. Так, было показано, что ФП1 активен в боль-

шей мере при низкой концентрации свободных ионов Ca^{2+} в моче, тогда как, например, остеопонтин – при высокой [116]. Возможно, зависимость ФП1 от содержания кальция в моче объясняется конформационными изменениями, которые вызывает этот ион при взаимодействии с молекулой гликопротеина [266, 267]. Показано также, что ФП1 *in vitro* стимулирует преобразование моногидратов оксалата кальция (СОМ) в дигидрат (СОД), который, как уже отмечалось, является значительно менее литогенным [71]. Вместе с тем, встречаются данные, противоречащие этому наблюдению. Показано, что в моче людей ФП1 встраивается преимущественно в кристаллы СОМ, а в органической матрице СОД он практически не обнаруживается [267]. Возможно, эти противоречия обусловлены различиями экспериментальных условий либо какими-то особенностями камнеобразования *in vivo*. В любом случае, данный вопрос нуждается в дополнительных исследованиях.

Таким образом, согласно современным представлениям, фрагмент протромбина 1 является одним из основных ингибиторов кристаллизации. Его действие основано на взаимодействии с кристаллами и образовании вокруг них протеинового «покрывала», которое препятствует адгезии кристаллического материала к клеткам уротелия и его дальнейшей агрегации. Не исключено, что антилитогенная активность ФП1 зависит от степени сиализации, гликозилирования и гамма-карбоксилирования молекулы.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Зверев ЯФ, Брюханов ВМ, Лампатов ВВ, Жариков АЮ. Современные представления о роли физико-химических факторов в патогенезе кальциевого нефролитиаза. *Нефрология* 2009; 13 (1): 39–50
- Khan SR, Kok DJ. *Modulators of urinary stone formation*. Front Biosci; 2004; 9: 1450–1482
- Kumar V, Lieske JC. Protein regulation of intrarenal crystallization. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006; 15 (4): 374–380
- Dent CE, Sutor DJ. Presence or absence of inhibitor of calcium-oxalate crystal growth in urine of normals and of stone-formers. *Lancet* 1971; 1: 776–778
- Kumar V, Farell G, Lieske JC. Whole urinary proteins coat calcium oxalate monohydrate crystals to greatly decrease their adhesion to renal cells. *J Urol* 2003; 170 (1): 221–225
- Tamm I, Horsfall FL. Characterization and separation of an inhibitor of viral hemagglutination present in urine. *Proc Soc Exp Biol Med* 1950; 74: 108–114
- Майданник ВГ, Дранник ГН. Белок Тамма-Хорсфалла: патогенетическая роль и клиническое значение при урологических и нефрологических заболеваниях. *Урол и нефрол* 1990; (5): 69–74
- Kumar S, Muchmore S. Tamm-Horsfall protein-uromodulin (1950-1990). *Kidney Int* 1990; 37: 1395–1401
- Gottschalk A. Carbohydrate residue of a urine mucoprotein inhibiting influenza virus haemagglutination. *Nature* 1952; 170: 662–663
- Grant AM, Neuberger A. The development of a radioimmunoassay for the measurement of urinary Tamm-Horsfall glycoprotein in the presence of sodium dodecyl sulphate. *Clin Sci* 1973; 44: 163–179
- Williams J, Marshall RD, van Halbeek H, Vliegenthart JF. Structural analysis of the carbohydrate moieties of human Tamm-Horsfall glycoprotein. *Carbohydr Res* 1984; 134 (1): 141–155
- Muchmore AV, Decker JM. Uromodulin: a unique 85-kilodalton immunosuppressive glycoprotein isolated from urine of pregnant women. *Science* 1985; 229: 479–481
- Peraldi MN. Tamm-Horsfall protein. *Nephrologie* 1992; 13 (1): 7–11
- Devuyst O, Dahan K, Pirson Y. Tamm-Horsfall protein or uromodulin: new ideas about an old molecule. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20 (7): 1290–1294
- Serafini-Cessi F, Malagolini N, Cavallone D. Tamm-Horsfall glycoprotein: biology and clinical relevance. *Am J Kidney Dis* 2003; 658–676
- Gadella BM. The assembly of a zona pellucida binding protein complex in sperm. *Reprod Domest Anim* 2008; 43 (5): 12–19
- Oelschlaeger T, Funfstuck R. Recurrent urinary tract infections in women. Virulence of pathogens and host reaction. *Urologe A* 2006; 45 (4): 412, 414–420
- Pennica D, Kohr WJ, Kuang WJ et al. Identification of human uromodulin as the Tamm-Horsfall urinary glycoprotein. *Science* 1987; 236: 83–88
- Bachmann S, Koeppen-Hagemann I, Kriz W. Ultrastructural localization of Tamm-Horsfall glycoprotein (THP) in rat kidney as revealed by protein A-gold immunocytochemistry. *Histochemistry* 1985; 83 (6): 531–538
- Bachmann S, Metzger R, Bunnemann B. Tamm-Horsfall protein-mRNA synthesis is localized to the thick ascending limb of Henle's loop in rat kidney. *Histochemistry* 1990; 94 (5): 517–523
- Malagolini N, Cavallone D, Serafini-Cessi F. Intracellular transport, cell-surface exposure and release of recombinant Tamm-Horsfall glycoprotein. *Kidney Int* 1997; 52 (5): 1340–1350
- Pook MA, Jeremiah S, Scheinman SJ et al. Localization of the Tamm-Horsfall glycoprotein (uromodulin) gene to chromosome 16p12.3-16p13.11. *Ann Hum Genet* 1993; 57 (4): 285–290
- Glauser A, Hochreiter W, Jaeger P, Hess B. Determinants of urinary excretion of Tamm-Horsfall protein in non-selected kidney stone formers and healthy subjects. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1580–1587
- Bichler KH, Kirchner Ch, Ideler V. Uromucoid excretion in normal individuals and stone formers. *Br J Urol* 1976; 47: 733–738
- Samuell CT. Uromucoid excretion in normal subjects, calcium stone formers and in patients with chronic renal failure. *Urol Res* 1979; 7: 5–12
- Thornley C, Dawney A, Cattell WR. Human Tamm-Horsfall glycoprotein: urinary and plasma levels in normal subjects and patients with renal disease determined by a fully validated radioimmunoassay. *Clin Sci* 1985; 68: 529–535
- Scurr DS, Robertson WG. Modifiers of calcium oxalate crystallization found in urine. II. Studies on their mode of action in an artificial urine. *J Urol* 1986; 136: 128–131
- Hess B, Zipperle L, Jaeger Ph. Citrate and calcium effects on Tamm-Horsfall glycoprotein as a modifier of calcium oxalate crystal aggregation. *Am J Physiol* 1993; 265: F784–F779
- Hebert SC. Bartter syndrome. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003; 12: 527–532
- Peters M, Ermert S, Jeck N et al. Classification and rescue of ROMK mutations underlying hyperprostaglandin E syndrome/antenatal Bartter syndrome. *Kidney Int* 2003; 64: 923–932
- Зверев ЯФ, Брюханов ВМ, Лампатов ВВ. Заболевания и синдромы, обусловленные генетическими нарушениями почечного транспорта электролитов. *Нефрология* 2004; 8 (4): 11–24
- Ying WZ, Sanders PW. Dietary salt regulates expression of Tamm-Horsfall glycoprotein in rats. *Kidney Int* 1998; 54 (4): 1150–1156

33. Bachmann S, Dawney AB, Bouby N, Bankir L. Tamm-Horsfall protein excretion during chronic alterations in urinary concentration and protein intake in the rat. *Renal Physiol Biochem* 1991; 14: 236–245
34. Bachmann S, Mutig K, Bates J et al. Renal effects of Tamm-Horsfall protein (uromodulin) deficiency in mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 288: F559–F567
35. Rampoldi L, Caridi G, Santon D et al. Allelism of MCKD, FJHN and GCKD caused by impairment of uromodulin export dynamics. *Hum Mol Genet* 2003; 15: 3369–3384
36. Schmitt R, Kahl T, Mutig K, Bachmann S. Selectively reduced expression of thick ascending limb Tamm-Horsfall protein in hypothyroid kidneys. *Histochem Cell Biol* 2004; 121 (4): 319–327
37. Fruhauf JH, Welker P, Mutig K et al. Lipid raft association of essential proteins of the thick ascending limb. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 561A
38. Kim GH, Ecelbarger CA, Mitchell C et al. Vasopressin increases Na-K-2Cl cotransporter expression in thick ascending limb of Henle's loop. *Am J Physiol Renal Physiol* 1999; 276: F96–F103
39. Grant AMS, Baker LRI, Neuberger A. Urinary Tamm-Horsfall glycoprotein in certain kidney diseases and its content in renal and bladder calculi. *Clin Sci* 1973; 44: 377–384
40. Bichler KH. Thirty-eight years of stone meetings in Europe. *Urol Res* 2006; 34 (2): 70–78
41. Knorle R, Schnierle P, Koch A et al. Tamm-Horsfall Glycoprotein: Role in Inhibition and Promotion of Renal Calcium Oxalate Stone Formation Studied with Fourier-Transform Infrared Spectroscopy. *Clin Chem* 1994; 40 (9): 1739–1743
42. Khan SR. Interactions between stone-forming calcific crystals and macromolecules. *Urol Int* 1997; 59: 59–71
43. Doyle IR, Ryall RL, Marshall VR. Inclusion of proteins into calcium oxalate crystals precipitated from human urine: a highly selective phenomenon. *Clin Chem* 1991; 37: 1589–1594
44. Kulaksizoglu S, Sofikerim M, Cevik C. Impact of various modifiers on calcium oxalate crystallization. *J Urol* 2007; 14: 214–218
45. 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
46. Kumar V, Peca de la Vega L, Farell G, Lieske JC. Urinary macromolecular inhibition of crystal adhesion to renal epithelial cells is impaired in male stone formers. *Kidney Int* 2005; 68 (4): 1784–1792
47. Mo L, Huang HY, Zhu XH et al. Tamm-Horsfall protein is a critical renal defense factor protecting against calcium oxalate crystal formation. *Kidney Int* 2004; 66 (3): 1159–1166
48. Wikström B, Wieslander J. Excretion of Tamm-Horsfall urinary glycoprotein (uromucoid) in renal stone formers. In: Smith LH et al. eds. *Urolithiasis, Clinical and Basic Research*. Plenum Press, New York, 1981; 685–688
49. Erwin DT, Kok DJ, Alam J et al. Calcium oxalate stone agglomeration reflects stone-forming activity: citrate inhibition depends on macromolecules larger than 30 kilodalton. *Am J Kidney Dis* 1994; 24 (6): 893–900
50. Romero MC, Nocera S, Nesse AB. Decreased Tamm-Horsfall protein in lithiasic patients. *Clin Biochem* 1997; 30 (1): 63–67
51. Hess B, Nakagawa Y, Parks JH, Coe FL. Molecular abnormality of Tamm-Horsfall glycoprotein in calcium oxalate nephrolithiasis. *Am J Physiol* 1991; 260 (4 Pt 2): F569–F578
52. Boevij ER, Cao LC, De Bruijn WC et al. Zeta potential distribution on calcium oxalate crystal and Tamm-Horsfall protein surface analyzed with Doppler electrophoretic light scattering. *J Urol* 1994; 152 (2 Pt 1): 531–536
53. Storey EL, Anderson GJ, Mack U et al. Desialylated transferrin as a serological marker of chronic excessive alcohol ingestion. *Lancet* 1987; i: 1292–1294
54. Rademacher TW, Parekh RB, Dwek RA. Glycobiology. *Ann Rev Biochem* 1988; 57: 785–838
55. Sumitra K, Pragasa V, Sakthivel R et al. Beneficial effect of vitamin E supplementation on the biochemical and kinetic properties of Tamm-Horsfall glycoprotein in hypertensive and hyperoxaluric patients. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1407–1415
56. Franzén A, Heinegerd D. Isolation and characterization of two sialoproteins present only in bone calcified matrix. *Biochem J* 1985; 232 (3): 715–724
57. Olberg A, Franzen A, Heidengard D. Cloning and sequence analysis of rat bone sialoprotein (osteopontin) cDNA reveals an Arg-Gly-Asp cell-binding sequence. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83 (23): 8819–8823
58. Helfrich MH, Nesbitt SA, Dorey EL, Horton MA. Rat osteoclasts adhere to a wide range of RGD (Arg-Gly-Asp) peptide-containing proteins, including the bone sialoproteins and fibronectin, a β_3 integrin. *J Bone Miner Res* 1992; 7: 335–343
59. Butler WT. Structural and functional domains of osteopontin. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 760: 6–11
60. Hu DD, Lin EC, Kovach NL et al. A biochemical characterization of the binding of osteopontin to integrins $\alpha_v\beta_1$ and $\alpha_v\beta_5$. *J Biol Chem* 1995; 270: 26232–26238
61. Liaw L, Skinner MP, Raines EW et al. The adhesive and migratory effects of osteopontin are mediated via distinct cell surface integrins: Role of $\alpha_v\beta_3$ in smooth muscle cell migration to osteopontin in vitro. *J Clin Invest* 1995; 95: 713–724
62. Weber GF, Ashkar A, Glimcher MJ, Cantor H. Receptor-ligand interaction between CD44 and osteopontin (Eta-1). *Science* 1996; 271: 509–512
63. Sibalic V, Fan X, Loffing J, Wuthrich RP. Upregulated renal tubular CD44, hyaluronan, and osteopontin in kdld mice with interstitial nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 1344–1353
64. Sodek J, Ganss B, McKee MD. Osteopontin. *Crit Rev Oral Biol Med* 2000; 11: 279–303
65. 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
66. Yokosaki Y, Tanaka K, Higashikawa F et al. Distinct structural requirements for binding of the integrins $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_5\beta_1$ and $\alpha_9\beta_1$ to osteopontin. *Matrix Biol* 2005; 24 (6): 418–427
67. Christensen B, Petersen TE, Swensen ES. Post-translational modification and proteolytic processing of urinary osteopontin. *Biochem J* 2008; 411: 53–61
68. Butler WT. The nature and significance of osteopontin. *Connect Tissue Res* 1989; 23: 123–136
69. Brown LF, Van de Water L, Papadopoulos-Sergiou A et al. Expression and distribution of osteopontin in human tissues: Widespread association with luminal epithelial surfaces. *Mol Biol Cell* 1992; 2: 1169–1180
70. Giachelli C, Bae N, Lombardi D et al. Molecular cloning and characterization of 2B7, a rat mRNA which distinguishes smooth muscle cell phenotypes in vitro and is identical to osteopontin (secreted phosphoprotein I, 2aR). *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 177: 867–873
71. Giachelli CM, Liaw L, Murry CE et al. Osteopontin expression in cardiovascular diseases. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 760: 109–126
72. Murry CE, Giachelli CM, Schwartz SM, Vracko R. Macrophages express osteopontin during repair of myocardial necrosis. *Am J Pathol* 1994; 145: 1450–1462
73. Sorensen S, Justesen SJ, Johnsen AH. Identification of a macromolecular crystal growth inhibitor in human urine as osteopontin. *Urol Res* 1995; 23: 327–334
74. Min W, Shiraga H, Chalko C et al. Quantitative studies of human urinary excretion of uropontin. *Kidney Int* 1998; 53: 189–193
75. Gericke A, Qin C, Spevak L et al. Importance of phosphorylation for osteopontin regulation of biomineralization. *Calcif Tissue Int* 2005; 77 (1): 45–54
76. Nomura S, Wills AJ, Edwards DR et al. Developmental

expression of 2ar (osteopontin) and SPARC (osteonectin) RNA as revealed by in situ hybridization. *J Cell Biol* 1988; 106: 441–450

77. Patarca R, Freeman GJ, Singh RP et al. Structural and functional studies of the early T lymphocyte activation 1 (Eta-1) gene: Definition of a novel T cell-dependent response associated with genetic resistance to bacterial infection. *J Exp Med* 1989; 170: 145–161

78. 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

79. Kohri K, Nomura S, Kitamura Y et al. Structure and expression of the mRNA encoding urinary stone protein (osteopontin). *J Biol Chem* 1993; 268 (15): 15180–15184

80. Denhardt DT, Guo X. Osteopontin: A protein with diverse functions. *FASEB J* 1993; 7: 1475–1482

81. Uede T, Katagiri Y, Iizuka J, Murakami M. Osteopontin, a coordinator of host defense system: A cytokine or an extracellular adhesive protein? *Microbiol Immunol* 1997; 41: 641–648

82. O'Brien EK, Garvin MR, Stewart DK et al. Osteopontin is synthesized by macrophage, smooth muscle, and endothelial cells in primary and restenotic human coronary atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1648–1656

83. Giachelli CM, Lombardi D, Johnson RJ et al. Evidence for a role of osteopontin in macrophage infiltration in response to pathological stimuli in vivo. *Am J Pathol* 1998; 152: 353–358

84. Liaw L, Birk DE, Ballas CB et al. Altered wound healing in a mice lacking a functional osteopontin gene (spp1). *J Clin Invest* 1998; 101: 1468–1478

85. Scatena M, Almeida M, Chaisson ML et al. NF-kappaB mediates alphavbeta3 integrin-induced endothelial cell survival. *J Cell Biol* 1998; 141: 1083–1093

86. Katagiri Y, Sleeman J, Fujii H et al. CD44 variants but not CD44s cooperate with I1-containing integrins to permit cells to bind to osteopontin independently of Arg-Gly-Asp acid, thereby stimulating cell motility and chemotaxis. *Cancer Res* 1999; 59: 219–226

87. Ophascharoensuk V, Giachelli CM, Gorant K et al. Obstructive uropathy in the mouse: role of osteopontin in interstitial fibrosis and apoptosis. *Kidney Int* 1999; 56: 571–580

88. Sodek J, Batista Da Silva AP, Zohar R. Osteopontin and mucosal protection. *J Dent Res* 2006; 85 (5): 404–415

89. Denhardt DT, Noda M, O'Regan AW et al. Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival. *J Clin Invest* 2001; 107: 1055–1061

90. Carlinfante G, Vassiliou D, Svensson O et al. Differential expression of osteopontin and bone sialoprotein in bone metastasis of breast and prostate carcinoma. *Clin Exp Metastasis* 2003; 20 (5): 437–444

91. Meller R, Stevens SL, Minami M et al. Neuroprotection by osteopontin in stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005; 25 (2): 217–225

92. 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

93. Hunter GK, Hauschka PV, Poole AR et al. Nucleation and inhibition of hydroxyapatite formation by mineralized tissue proteins. *Biochem J* 1996; 317: 59–64

94. Rittling SR, Matsumo HN, McKee MD et al. Mice lacking osteopontin show normal development and bone structure but display altered osteoclast formation in vitro. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 1101–1111

95. Boskey AL, Spevak L, Paschalis E et al. Osteopontin deficiency increases mineral content and mineral crystallinity in mouse bone. *Calcif Tissue Int* 2002; 71: 145–154

96. Yoshitake H, Rittling SR, Denhardt DT, Noda M. Osteopontin-deficient mice are resistant to ovariectomy-induced bone resorption. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 156–160

97. Prince CW, Butler WT. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 regulates the biosynthesis of osteopontin, a bone-derived cell

attachment protein, in clonal osteoblast-like osteosarcoma cells. *Collagen Rel Res* 1987; 7: 305–313

98. Noda M, Rodan GA. Transcriptional regulation of osteopontin production in rat osteoblast-like cells by parathyroid hormone. *J Biol Chem* 1989; 108: 713–718

99. Noda M, Vogel RL, Craig AM et al. Identification of a DNA sequence responsible for binding of the 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor and 1,25-dihydroxyvitamin D3 enhancement of mouse secreted phosphoprotein 1 (SPP-1 or osteopontin) gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 9995–9999

100. Chang PL, Prince CW. 1 Alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 stimulates synthesis and secretion of nonphosphorylated osteopontin (secreted phosphoprotein 1) in mouse JB6 epidermal cells. *Cancer Res* 1994; 51: 2144–2150

101. Ihara H, Denhardt DT, Furuya K et al. Parathyroid hormone-induced bone resorption does not occur in the absence of osteopontin. *J Biol Chem* 2001; 276: 13065–13071

102. Niskanen LK, Suhonen M, Siitonen O et al. Aortic and lower limb artery calcification in type II (non-insulin-dependent) diabetic patients and non-diabetic control subjects: a five year follow-up study. *Atherosclerosis* 1990; 84: 61–71

103. Locker TH, Schwartz RS, Cotta CW, Hickman JR. Fluoroscopic coronary artery calcification and associated coronary disease in asymptomatic young men. *J Am Coll Cardiol* 1992; 19: 1167–1172

104. Puentes G, Detrano R, Tang W et al. Estimation of coronary calcium mass using electron beam computed tomography: a promising approach for predicting coronary events? *Circulation* 1995; 92: 1313

105. Deneke T, Langner K, Gewe PH et al. Ossification in atherosclerotic carotid arteries. *Z Kardiol* 2001; 90 (Suppl 3): III/106–III/115

106. Olson JC, Edmundowicz D, Becker DJ et al. Coronary calcium in adults with type 1 diabetes: a stronger correlate of clinical coronary artery disease in men than in women. *Diabetes* 2000; 49: 1571–1578

107. Hirota S, Imakita M, Kohri K et al. Expression of osteopontin messenger RNA by macrophages in atherosclerotic plaques. A possible association with calcification. *Am J Pathol* 1993; 143: 1003–1008

108. Ikeda T, Shirasawa T, Esaki Y et al. Osteopontin mRNA is expressed by smooth muscle-derived foam cells in human atherosclerotic lesions of the aorta. *J Clin Invest* 1993; 92: 2814–2820

109. Shanahan CM, Cary NR, Metcalfe JC, Weissberg PL. High expression of genes for calcification-regulating proteins in human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994; 93: 2393–2402

110. O'Brien KD, Kuusisto J, Reichenbach DD et al. Osteopontin is expressed in human aortic valvular lesions. *Circulation* 1995; 92: 2163–2168

111. Srivatsa SS, Harry PJ, Maercklein PB et al. Increased cellular expression of matrix proteins that regulate mineralization is associated with calcification of native human and porcine xenograft bioprosthetic heart valves. *J Clin Invest* 1997; 99: 996–1009

112. Wada T, McKee MD, Steitz S, Giachelli CM. Calcification of vascular smooth muscle cell cultures: inhibition by osteopontin. *Circ Res* 1999; 84: 166–178

113. Chen J, Singh K, Mukherjee BB, Sodek J. Developmental expression of osteopontin (OPN) mRNA in rat tissues: Evidence for a role for OPN in bone formation and resorption. *Matrix* 1993; 13: 113–123

114. Madsen KM, Zhang L., Abu Shammat AR et al. Ultrastructural localization of osteopontin in the kidney: Induction by lipopolysaccharide. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1043–1053

115. Rogers SA, Padanilam BJ, Hruska KA et al. Metanephric osteopontin regulates nephrogenesis in vitro. *Am J Physiol* 1997; 272: F469–F476

116. Giachelli CM, Pichler R, Lombardi D et al. Osteopontin expression in angiotensin II-induced tubulointerstitial nephritis. *Kidney Int* 1994; 45: 515–524

117. Pichler RH, Giachelli CM, Lombardi D et al. Tubulointerstitial disease in glomerulonephritis: Potential role of osteopontin (uropontin). *Am J Pathol* 1994; 144: 915–926
118. Pichler RH, Franceschini N, Young BA et al. Pathogenesis of cyclosporine nephropathy: Roles of angiotensin II and osteopontin. *J Am Soc Nephrol* 1995; 6: 1186–1196
119. Magil AB, Pichler RH, Johnson RJ. Osteopontin in chronic puromycin aminonucleoside nephrosis. *J Am Soc Nephrol* 1997; 18: 1383–1390
120. Lopez CA, Hoyer JR, Wilson PD et al. Heterogeneity of osteopontin expression among nephrons in mouse kidneys and enhanced expression in sclerotic glomeruli. *Lab Invest* 1993; 69: 355–363
121. Kleinman JG, Beshensky A, Worcester EM, Brown D. Expression of osteopontin, a urinary inhibitor of stone mineral crystal growth, in rat kidney. *Kidney Int* 1995; 47: 1585–1596
122. Hudkins KL, Giachelli CM, Cui Y et al. Osteopontin expression in fetal and mature human kidney. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 444–457
123. Worcester EM, Blumenthal SS, Beshensky AM, Lewand DL. The calcium oxalate crystal growth inhibitor protein produced by mouse kidney cortical cells in culture is osteopontin. *J Bone Miner Res* 1992; 7: 1029–1036
124. Hoyer JP, Otvos LJ Jr, Urge L. Osteopontin in urinary stone formation. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 760: 257–265
125. Worcester EM, Beshensky AM. Osteopontin inhibits nucleation of calcium oxalate crystals. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 760: 375–377
126. Wesson JA, Worcester EM, Weissner JH et al. Control of calcium oxalate crystal structure and cell adherence by urinary macromolecules. *Kidney Int* 1998; 53: 952–957
127. Umekawa T. Structural characteristics of osteopontin for calcium oxalate crystal. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 1999; 90 (3): 436–444
128. Asplin JR, Arsenault D, Parks JH et al. Contribution of human uropontin to inhibition of calcium oxalate crystallization. *Kidney Int* 1998; 53: 194–199
129. 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
130. 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
131. Gokhale JA, Glenton PA, Khan SR. Localization of Tamm-Horsfall protein and osteopontin in a rat nephrolithiasis model. *Nephron* 1996; 73: 456–461
132. 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
133. Yagisawa T, Chandhoke S, Fan J, Lucia S. Renal osteopontin expression in experimental urolithiasis. *J Endourol* 1998; 12: 171–176
134. Yasui T, Fujita K, Sasaki S et al. Expression of bone matrix proteins in urolithiasis model rats. *Urol Res* 1999; 27: 255–261
135. Beshensky AM, Wesson JA, Kleinman JG et al. Renoprotective modulation of calcium oxalate crystal structure by osteopontin in vivo. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 558A
136. Mazzali M, Kipari T, Ophascharoensuk V et al. Osteopontin – A molecule for all seasons. *QJM* 2002; 95 (1): 3–13
137. 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
138. Mo L, Liaw L, Evan AP et al. Renal calcinosis and stone formation in mice lacking osteopontin, Tamm-Horsfall protein, or both. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: F1935–F1943
139. Yasui T, Fujita K, Hayashi Y et al. Quantification of osteopontin in the urine of healthy and stone-forming men. *Urol Res* 1999; 27: 225–230
140. Nishio S, Hatanaka M, Takeda H et al. Calcium phosphate crystal-associated proteins: alpha2-HS-glycoprotein, prothrombin F1, and osteopontin. *Mol Urol* 2000; 4: 383–390
141. Huang HS, Ma MC, Chen CF, Chen J. Lipid peroxidation and its correlations with urinary levels of oxalate, citric acid, and osteopontin in patients with renal calcium oxalate stones. *Urology* 2003; 62 (6): 1123–1128
142. Tsuji H, Tohru U, Hirotsugu U et al. Urinary concentration of osteopontin and association with urinary supersaturation and crystal formation. *Int J Urol* 2007; 14 (7): 630–634
143. Bautista DS, Denstedt J, Chambers AF, Harris JF. Low-molecular-weight variants of osteopontin generated by serine proteinases in urine of patients with kidney stones. *J Cell Biochem* 1996; 61: 402–409
144. Hedgepeth RC, Yang L, Resnick MI, Marengo SR. Expression of proteins that inhibit calcium oxalate crystallization in vitro in the urine of normal and stone-forming individuals. *Am J Kidney Dis* 2001; 37: 104–112
145. Kleinman LG, Wesson JA, Hughes J. Osteopontin and calcium stone formation. *Nephron Physiol* 2004; 98: 43–47
146. Yamate T, Tsuji H, Amasaki N et al. Analysis of osteopontin DNA in patients with urolithiasis. *Urol Res* 2000; 28: 159–166
147. Gao B, Yasui T, Okada A et al. A polymorphism of the osteopontin gene is related to urinary calcium stones. *J Urol* 2005; 174: 1472–1476
148. Christensen B, Kazanecki 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
149. Addadi L., Weiner S. Interactions between acidic proteins and crystals: Stereochemical requirements in biomineralization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 4110–4114
150. Wesson JA, Worcester E. Formation of hydrated calcium oxalate in the presence of poly-L-aspartic acid. *Scanning Microsc* 1996; 10: 415–424
151. Beshensky AM, Wesson JA, Worcester EM et al. Effects of urinary macromolecules on hydroxyapatite crystal formation. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2108–2116
152. Jung T, Sheng X, Choi CK et al. Probing crystallization of calcium oxalate monohydrate and the role of macromolecule additives with in situ atomic force microscopy. *Langmuir* 2004; 20: 8587–8596
153. Taller A, Grohe B, Rogers KA et al. Specific adsorption of osteopontin and synthetic polypeptides to calcium oxalate monohydrate crystals. *Biophys J* 2007; 93 (5): 1768–1777
154. Kohri K, Suzuki Y, Yoshida K et al. Molecular cloning and sequencing of cDNA encoding urinary stone protein, which is identical to osteopontin. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 184: 859–864
155. 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: 388–393
156. Yamate T, Kohri K, Umekawa T et al. Interaction between osteopontin on Madin-Darby canine kidney cell membrane and calcium oxalate crystal. *Urol Res* 1999; 62: 81–86
157. Konya E, Umekawa T, Iguchi M, Kurita T. The role of osteopontin on calcium oxalate crystal formation. *Eur Urol* 2003; 43 (5): 564–571
158. 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
159. Okada A, Nomura S, Saeki Y et al. Morphological conversion of calcium oxalate crystals into stones is regulated by osteopontin in mouse kidney. *J Bone Miner Res* 2008; 23 (10): 1629–1637
160. Sørensen ES, Højrup P, Petersen TE. Posttranslational modifications of bovine osteopontin: identification of twenty-eight phosphorylation and three O-glycosylation sites. *Protein Sci* 1995; 4: 2040–2049
161. Christensen B, Nielsen MS, Haselmann KF et al. Post-translationally modified residues of native human osteopontin are located in clusters: identification of 36 phosphorylated and five O-glycosylation sites and their biological implications. *Biochem J* 2005; 390: 285–292

162. Keykhosravi M, Doherty-Kirby A, Zhang C et al. Comprehensive identification of post-translational modifications of rat bone osteopontin by mass spectrometry. *Biochemistry* 2005; 44: 6990–7003
163. Boskey AL, Maresca M, Ullrich W et al. Osteopontin-hydroxyapatite interactions in vitro: Inhibition of hydroxyapatite formation and growth in gelatin-gel. *Bone Miner* 1993; 22: 147–159
164. Boskey AL. Osteopontin and related phosphorylated sialoproteins: effects on mineralization. *Ann N Y Acad Sci* 1995; 760: 249–256
165. Goldberg HA, Warner KJ, Li MC, Hunter GK. Binding of bone sialoprotein, osteopontin and synthetic polypeptides to hydroxyapatite. *Connect Tissue Res* 2001; 42: 25–37
166. Hoyer JR, Asplin JR, Otvos L. Phosphorylated osteopontin peptides suppress crystallization by inhibiting the growth of calcium oxalate crystals. *Kidney Int* 2001; 60: 77–82
167. Steitz SA, Speer MY, McKee MD et al. Osteopontin inhibits mineral deposition and promotes regression of ectopic calcification. *Am J Pathol* 2002; 161 (6): 2035–2046
168. Chen Y, Bal BS, Gorski JP. Calcium and collagen binding properties of osteopontin, and bone acidic glycoprotein-75 from bone. *J Biol Chem* 1992; 276: 24871–24878
169. Coe FL, Boyce WH, Friedman GD et al. Prevention and treatment of kidney stones. *J Urol* 1989; 141: 804–808
170. Sheng X, Ward MD, Wesson JA. Crystal surface adhesion explains the pathological activity of calcium oxalate hydrates in kidney stone formation. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (7): 1904–1908
171. Ryall RL, Chauvet MC, Grover PK. Intracrystalline proteins and urolithiasis: a comparison of the protein content and ultrastructure of urinary calcium oxalate monohydrate and dihydrate crystals. *BJU International* 2005; 96 (4): 654–663
172. Falini G, Albeck S, Weiner S, Addadi L. Control of aragonite or calcite polymorphism by mollusk shell macromolecules. *Science* 1996; 271: 67–69
173. Жариков АЮ, Зверев ЯФ, Брюханов ВМ, Лампатов ВВ. Современные представления о модуляторах оксалатного нефролитиаза. I. Стимуляторы камнеобразования. *Нефрология* 2009; 13 (1): 56–72
174. Tomazie BB, Nancollas GH. The kinetics of dissolution of calcium oxalate hydrates II. The dihydrate. *Invest Urol* 1980; 18: 97–101
175. Lepage L, Tawashi R. Growth and characterization of calcium oxalate dihydrate crystals (weddelite). *J Pharm Sci* 1982; 71: 1059–1062
176. Wiessner JH, Mandel GS, Mandel NS. Membrane interactions with calcium oxalate crystals: variation in haemolytic potentials with crystal morphology. *J Urol* 1986; 135: 835–839
177. Wiessner JH, Hung LY, Mandel NS. Crystal attachment to injured renal collecting duct cells. Influence of urine proteins and pH. *Kidney Int* 2003; 63: 1313–1320
178. Ryall RL, Fleming DE, Grover PK et al. The hole truth. Intracrystalline proteins and calcium oxalate kidney stones. *Mol Urol* 2000; 4: 391–402
179. Ryall RL, Fleming DE, Doyle IR et al. Intracrystalline proteins and the hidden ultrastructure of calcium oxalate urinary crystals: Implications for kidney stone formation. *J Struct Biol* 2001; 134: 5–14
180. Fleming DE, van Riessen A, Chauvet MC et al. Intracrystalline proteins and urolithiasis: a synchrotron X-ray diffraction study of calcium oxalate monohydrate. *J Bone Min Res* 2003; 18: 1282–1291
181. Canales BK, Anderson L, Higgins L et al. Second prize: Comprehensive proteomic analysis of human calcium oxalate monohydrate kidney stone matrix. *J Endourol* 2008; 22 (6): 1161–1167
182. Merchant ML, Cummins TD, Wilkey DW et al. Proteomic analysis of renal calculi indicates an important role for inflammatory processes in calcium stone formation. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 295: F1254–F1258
183. Hoyer JR. Uropontin in urinary calcium stone formation. *Miner Electrolyte Metab* 1995; 20: 385–392
184. Atmani F, Opalko FJ, Khan SR. Association of urinary macromolecules with calcium oxalate crystals induced in vitro in normal human and rat urine. *Urol Res* 1996; 24: 45–50
185. Webber D, Rodgers AL, Sturrock ED. Selective inclusion of proteins into urinary calcium oxalate crystals: comparison between stone-prone and stone-free population groups. *J Cryst Growth* 2003; 259: 179–189
186. Chauvet MC, Ryall RL. Intracrystalline proteins and calcium oxalate crystal degradation in MDCK II cells. *J Struct Biol* 2005; 151: 12–17
187. Grover PK, Thurgood LA, Fleming DE et al. Intracrystalline urinary proteins facilitate degradation and dissolution of calcium oxalate crystals in cultured renal cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 294: F355–F361
188. Le Hir M, Dubach UC, Schmidt U. Quantitative distribution of lysosomal hydrolases in the rat nephron. *Histochemistry* 1979; 63: 245–251
189. Khan SR, Shevock PN, Hackett RL. Urinary enzymes and calcium oxalate urolithiasis. *J Urol* 1989; 142: 846–849
190. Singh AK. Presence of lysosomal enzymes in the normal glomerular basement membrane matrix. *Histochem J* 1993; 25: 562–568
191. Kudo S, Miyamoto G, Kawano K. Proteases involved in the metabolic degradation of human interleukin-11 by rat kidney lysosomes. *J Interferon Cytokine Res* 1999; 19: 361–367
192. de Bruijn WC, Boeve ER, van Run PR et al. Etiology of experimental calcium oxalate monohydrate nephrolithiasis in rats. *Scanning Microsc Int* 1994; 8: 541–550
193. de Water R, Nordermeer C, van der Kwast TH et al. Calcium oxalate nephrolithiasis: effect of renal crystal deposition on the cellular composition of the renal interstitium. *Am J Kidney Dis* 1999; 33: 761–771
194. de Water R, Nordemeer C, Houtsmuller AS et al. Role of macrophages in nephrolithiasis in rats: an analysis of the renal interstitium. *Am J Kidney Dis* 2000; 36: 615–625
195. Khan SR, Byer KJ, Thamilselvan S et al. Crystal-cell interaction and apoptosis in oxalate-associated injury of renal epithelial cells. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: S457–S463
196. Umekawa T, Chegini N, Khan SR. Increased expression of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) by renal epithelial cell in culture on exposure to calcium oxalate, phosphate and uric acid crystals. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 664–669
197. Khan SR, Shevock PN, Hackett RL. Acute hyperoxaluria, renal injury and calcium oxalate urolithiasis. *J Urol* 1992; 147: 226–230
198. Lieske JC, Deganello S, Toback GF. Cell-crystal interactions and kidney stone formation. *Nephron* 1999; 81 (Suppl 1): 8–17
199. Тиктинский ОЛ, Александров ВП. *Мочекаменная болезнь*. СПб: Питер, 2000; 29–30
200. Steinbuch M, Loeb J. Isolation of an α 2-globulin from human plasma. *Nature* 1961; 192: 1196
201. Heide K, Heimbürger N, Haupt H. An inter- α -trypsin inhibitor of human serum. *Clin Chim Acta* 1965; 11: 82–85
202. Fries E, Kaczmarczyk A. Inter- α -inhibitor, hyaluronan and inflammation. *Acta Biochim Pol* 2003; 50 (3): 735–742
203. Chen L, Mao SJT, Larsen WJ. Identification of a factor in fetal bovine serum that stabilizes the cumulus extracellular matrix, a role for member of the inter-alpha-inhibitor family. *J Biol Chem* 1992; 267: 12380–12386
204. Balduyck M, Laroui S, Mizon C, Mizon J. A proteoglycan related to the urinary trypsin inhibitor. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 1989; 370: 331–336
205. Enghild JJ, Thøgersen IB, Pizzo SV, Salvesen G. Analysis of inter-alpha-trypsin inhibitor and a novel trypsin inhibitor, pre-alpha-trypsin inhibitor, from human plasma: Polypeptide chain stoichiometry and assembly by glycan. *J Biol Chem* 1989; 264: 15975–15981
206. Malki N, Balduyck M, Maes P et al. The heavy chains of human plasma inter-alpha-trypsin inhibitor: Their isolation, their identification by electrophoresis and partial sequencing. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 1992; 373: 1009–1018
207. Rouet P, Raguenez G, Tronche F et al. A potent enhancer

- made of clustered liver specific elements in the transcription control sequences of human α 1-microglobulin/bikunin gene. *J Biol Chem* 1992; 267: 20765–20773
208. Hochstrasser K, Bretzel G, Feuth H et al. The inter- α -trypsin inhibitor as precursor of the acid-stable protease inhibitors in human serum and urine. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem* 1976; 357: 153–162
209. Dietl T, Dobrinski W, Hochstrasser K. Human inter- α -trypsin inhibitor: Limited proteolysis by trypsin, plasmin, kallikrein, and granulocytic elastase and inhibitory properties of the cleavage products. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem* 1979; 360: 1313–1318
210. Potempa J, Kwon K, Chawla R, Travis J. Inter- α -trypsin inhibitor: Inhibition spectrum of native and derived forms. *J Biol Chem* 1989; 264: 15109–15114
211. Salier JP. α -trypsin inhibitor: Emergence of a family within the Kunitz-type protease inhibitor superfamily. *Trends Biochem Sci* 1990; 15: 435–439
212. Xu Y, Carr PD, Guss JM, Ollis DL. The crystal structure of bikunin from inter-alpha-inhibitor complex: a serine protease inhibitor with two Kunitz domains. *J Mol Biol* 1998; 276 (5): 955–966
213. Freis E, Blom AM. Bikunin – not just a plasma proteinase inhibitors. *Int J Biochem Cell Biol* 2000; 32 (2): 125–137
214. Puglia MJ, Valdes RJ, Jortani SA. Bikunin (urinary trypsin inhibitor): structure, biological relevance, and measurement. *Adv Clin Chem* 2007; 44: 223–245
215. Wachter E, Hochstrasser K. Kunitz-type proteinase inhibitors derived by limited proteolysis of the inter- α -trypsin inhibitor, IY: the amino acid sequence of the human urinary trypsin inhibitor isolated by affinity chromatography. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem* 1981; 362: 1351–1355
216. Kanayama N, El Maradney E, Halim A et al. Urinary trypsin inhibitor prevents uterine muscle contraction by inhibition of Ca^{++} influx. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 192–199
217. Kanayama N, Halim A, Maehara K et al. Kunitz-type trypsin inhibitor prevents LPS-induced increase of cytosolic free Ca^{2+} in human neutrophils and HUVEC cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 207: 324–330
218. Maehara K, Kanayama N, Halim A et al. Down-regulation of interleukin-8 gene expression in HL60 cell line by human Kunitz-type trypsin inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 206: 927–934
219. Zhuo L, Salustri A, Kimata K. A physiological function of serum proteoglycan bikunin: the chondroitin sulfate moiety plays a central role. *Glycoconj J* 2002; 19 (4-5): 241–247
220. Atmani F, Lacour B, Drueke T, Daudon M. Isolation and purification of a new glycoprotein from human urine inhibiting calcium oxalate crystallization. *Urol Res* 1993; 21: 61–66
221. Bratt T, Olsson H, Sjöberg EM et al. Cleavage of the α 1-microglobulin-bikunin precursor is localized to the Golgi apparatus of rat liver cells. *Biochem Biophys Acta* 1993; 1157: 147–154
222. Atmani F, Khan SR. Characterization of uronic-acid-rich inhibitor of calcium oxalate crystallization isolated from rat urine. *Urol Res* 1995; 23: 95–101
223. Tang Y, Grover PK, Moritz RL et al. Is nephrocalcin related to the urinary derivative (bikunin) of inter-alpha-trypsin inhibitor? *Br J Urol* 1995; 75: 425–430
224. Atmani F, Lacour B, Jungers P et al. Molecular characteristics of uronic-acid-rich protein, a strong inhibitor of calcium oxalate crystallization in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 191: 1158–1165
225. Atmani F, Lacour B, Jungers P et al. Reduced inhibitory activity of uronic-acid-rich protein in urine of stone formers. *1994*; 22: 257–260
226. Swensen S, Hansen K, Bak S, Justesen SJ. An unidentified macromolecular inhibitory constituent of calcium oxalate crystal growth in human urine. *Urol Res* 1990; 18: 373–379
227. Atmani F, Mizon J, Khan SR. Identification of uronic-acid-rich protein as urinary bikunin the light chain of inter- α -inhibitor. *Eur J Biochem* 1996; 236: 984–990
228. Iida S, Peck AB, Johnson-Tardieu J et al. Temporal changes in mRNA expression for bikunin in the kidneys of rats during calcium oxalate nephrolithiasis. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 986–996
229. 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
230. Khan SR. Renal tubular damage/dysfunction: key to the formation of kidney stones. *Urol Res* 2006; 34 (2): 86–91
231. Grewal JC, Tsai JY, Khan SR. Oxalate-inducible AMBP gene and its regulatory mechanism in renal tubular epithelial cells. *Biochem J* 2005; 387 (Pt 3): 609–616
232. Iida S, Johnson-Tardieu J, Glenton P et al. Molecular detection of bikunin in normal and oxalate-exposed kidneys and renal epithelial cells. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 563A
233. Atmani F, Glenton PA, Khan SR. Role of inter-alpha-inhibitor and its related proteins in experimentally induced calcium oxalate urolithiasis. Localization of proteins and expression of bikunin gene in the rat kidney. *Urol Res* 1999; 27 (1): 63–67
234. Moriyama MT, Glenton PA, Khan SR. Expression of inter-alpha-inhibitor related proteins in kidneys and urine of hyperoxaluric rats. *J Urol* 2001; 165 (5): 1687–1692
235. Okuyama M, Yamaguchi S, Yachiku S. Identification of bikunin isolated from human urine inhibits calcium oxalate crystal growth and its localization in the kidneys. *Int J Urol* 2003; 10 (10): 530–535
236. Atmani F, Mizon J, Khan SR. Inter- α -inhibitor: a protein family involved in the inhibition of calcium oxalate crystallization. *Scanning Microsc* 1996; 10: 425–433
237. Atmani F, Khan SR. Inter- α -inhibitor, another serum protein with potential involvement in calcium oxalate nephrolithiasis. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 1798A
238. Ebisuno S, Nishihata M, Inagaki T et al. Bikunin prevents adhesion of calcium oxalate crystal to renal tubular cells in human urine. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10 (Suppl 14): S436–S440
239. Mäkitögnon-Benissan J, Tardivel S, Hennequin C et al. Inhibitory effect of bikunin on calcium oxalate crystallization in vitro and urinary bikunin decrease in renal stone formers. *Urol Res* 1999; 27 (1): 69–75
240. Atmani F, Khan SR. Role of urinary bikunin in the inhibition of calcium oxalate crystallization. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: S385–S388
241. Kobayashi H, Shibata K, Fujie M et al. Identification of structural domains in inter- α -trypsin inhibitor involved in calcium oxalate crystallization. *Kidney Int* 1998; 53: 1727–1735
242. Marengo SR, Resnick MI, Yang L, Chung JY. Differential expression of urinary inter-alpha-trypsin inhibitor trimers and dimers in normal compare to active calcium oxalate stone forming men. *J Urol* 1998; 159 (5): 1444–1450
243. Evan AP, Bledsoe S, Worcester EM et al. Renal inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 3 increases in calcium oxalate stone-forming patients. *Kidney Int* 2007; 72 (12): 1503–1511
244. Suzuki M, Kobayashi H, Kageyama S et al. Excretion of bikunin and its fragments in the urine of patients with renal stones. *J Urol* 2001; 166 (1): 268–274
245. Moczydlowski E, Moss GW, Lucchesi KJ. Bovine pancreatic trypsin inhibitor as a probe of large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels at an internal site of interaction. *Biochem Pharmacol* 1992; 43: 21–28
246. Stapleton AM, Ryall RL. Crystal matrix protein—getting blood out of a stone. *Miner Electrolyte Metab* 1994; 20 (6): 399–409
247. Stapleton AM, Simpson RJ, Ryall RL. Crystal matrix protein is related to human prothrombin. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 195 (3): 1199–1203
248. Suzuki K, Moriyama M, Nakajima C et al. Isolation and partial characterization of crystal matrix protein as a potent inhibitor of calcium oxalate crystal aggregation: evidence of activation peptide of human prothrombin. *Urol Res* 1994; 22 (1): 45–50
249. Stapleton AM, Ryall RL. Blood coagulation proteins and urolithiasis are linked: crystal matrix protein is the F1

activation peptide of human prothrombin. *Br J Urol* 1995; 75 (6): 712–719

250. Stapleton AM, Dawson CJ, Grover PK et al. Further evidence linking urolithiasis and blood coagulation: urinary prothrombin fragment 1 is present in stone matrix. *Kidney Int* 1996; 49 (3): 880–888

251. Grover PK, Thurgood LA, Ryall RL. Effect of urine fractionation on attachment of calcium oxalate crystals to renal epithelial cells: implications for studying renal calculogenesis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292 (5): F1396–F1403

252. Atmani F, Glenton PA, Khan SR. Identification of proteins extracted from calcium oxalate and calcium phosphate crystals induced in the urine of healthy and stone forming subjects. *Urol Res* 1998; 26 (3): 201–207

253. Ryall RL. Glycosaminoglycans, proteins, and stone formation: adult themes and child's play. *Pediatr Nephrol* 1996; 10 (5): 656–666

254. Ryall RL, Grover PK, Stapleton AM et al. The urinary F1 activation peptide of human prothrombin is a potent inhibitor of calcium oxalate crystallization in undiluted human urine in vitro. *Clin Sci (Lond)* 1995; 89 (5): 533–541

255. Grover PK, Ryall RL. Inhibition of calcium oxalate crystal growth and aggregation by prothrombin and its fragments in vitro: relationship between protein structure and inhibitory activity. *Eur J Biochem* 1999; 263 (1): 50–56

256. Grover PK, Ryall RL. Effect of prothrombin and its activation fragments on calcium oxalate crystal growth and aggregation in undiluted human urine in vitro: relationship between protein structure and inhibitory activity. *Clin Sci (Lond)* 2002; 102 (4): 425–434

257. Walton RC, Kavanagh JP, Heywood BR, Rao PN. The association of different urinary proteins with calcium oxalate hydromorphs. Evidence for non-specific interactions. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1723 (1-3): 175–183

258. Gul A, Rez P. Models for protein binding to calcium oxalate surfaces. *Urol Res* 2007; 35 (2): 63–71

259. Webber D, Rodgers AL, Sturrock ED. Synergism

between urinary prothrombin fragment 1 and urine: a comparison of inhibitory activities in stone-prone and stone-free population groups. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40 (9): 930–936

260. Webber D, Radcliffe CM, Royle L et al. Sialylation of urinary prothrombin fragment 1 is implicated as a contributory factor in the risk of calcium oxalate kidney stone formation. *FEBS J* 2006; 273 (13): 3024–3037

261. Webber D, Rodgers AL, Sturrock ED. Glycosylation of prothrombin fragment 1 governs calcium oxalate crystal nucleation and aggregation, but not crystal growth. *Urol Res* 2007; 35 (6): 277–285

262. Buchholz NP, Kim DS, Grover PK et al. The effect of warfarin therapy on the charge properties of urinary prothrombin fragment 1 and crystallization of calcium oxalate in undiluted human urine. *J Bone Miner Res* 1999; 14 (6): 1003–1012

263. Wadelius M, Pirmohamed M. Pharmacogenetics of warfarin: current status and future challenges. *Pharmacogenomics J* 2007; 7 (2): 99–111

264. Stapleton AM, Timme TL, Ryall RL. Gene expression of prothrombin in the human kidney and its potential relevance to kidney stone disease. *Br J Urol* 1998; 81 (5): 666–671

265. Grover PK, Miyazawa K, Coleman M et al. Renal prothrombin mRNA is significantly decreased in a hyperoxaluric rat model of nephrolithiasis. *J Pathol* 2006; 210 (3): 273–281

266. Hof M, Fleming GR, Fidler V. Time-resolved fluorescence study of a calcium-induced conformational change in prothrombin fragment 1. *Proteins* 1996; 24 (4): 485–494

267. Li L, Darden T, Hiskey R, Pedersen LG. Computational studies of human prothrombin fragment 1, the Gla domain of factor IX and several biological interesting mutants. *Haemostasis* 1996; 26 (1): 54–59

Поступила в редакцию 03.08.2009 г.

Принята в печать 02.03.2010 г.

© В.А.Серов, А.М.Шутов, М.В.Мензоров, Е.Р.Макеева, Д.В.Серова, 2010
УДК 616.61-008.64-036.92-036.22]:616.12-008.46-036.12

В.А. Серов¹, А.М. Шутов¹, М.В. Мензоров¹, Е.Р. Макеева¹, Д.В. Серова¹

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

V.A. Serov, A.M. Shutov, M.V. Menzorov, E.R. Makeeva, D.V. Serova

EPIDEMIOLOGY OF CHRONIC KIDNEY DISEASE PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE

¹Кафедра терапии и профессиональных болезней медицинского факультета Ульяновского государственного университета, Россия

РЕФЕРАТ

Имеющиеся данные свидетельствуют, что распространенность хронической болезни почек (ХБП) среди больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) составляет от 9,2 при ХСН, обусловленной врожденными пороками сердца, до 71,2% – при ХСН, обусловленной ишемической болезнью сердца (ИБС) и артериальной гипертензией. Снижение функции почек ассоциировано с возрастом и функциональным классом ХСН. Однако, если низкую частоту ХБП среди больных с ХСН с врожденными пороками сердца можно объяснить молодым возрастом и нетяжелой ХСН, то причины значительного различия в распространенности ХБП у больных с ХСН, обусловленной ИБС и артериальной гипертензией, остаются неясными. Требуется уточнения распространенности ХБП как среди больных с ХСН в целом, так и в отдельных группах больных. Необходимо уточнение причины гендерных особенностей ХСН, ассоциированной с ХБП. Целесообразно проведение не только клинических, но и клинико-экономических исследований, при этом следует учитывать, что результаты, полученные зарубежными исследователями, нельзя безоговорочно использовать в России, так как имеются значительные отличия как в организации медицинской помощи населению, так и в спектре медикаментозных препаратов, особенно препаратов-дженериков, используемых при лечении ХСН.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, хроническая сердечная недостаточность, эпидемиология.

ABSTRACT

Available data indicate that the prevalence of chronic kidney disease (CKD) among patients with chronic heart failure (CHF) ranges from 9.2 for chronic heart failure caused by congenital heart disease, up 71.2% with chronic heart failure caused by coronary heart disease (CHD) and arterial hypertension. Reduced renal function is associated with age and functional class of CHF. However, if the low frequency of CKD among patients with CHF with congenital heart disease can be attributed to young age and non-severe heart failure, the reasons for substantial differences in the prevalence of CKD in patients with CHF due to ischemic heart disease and hypertension, remains unclear. Requires clarification as the prevalence of CKD among patients with CHF in general and in specific groups of patients. Should clarify the causes of gender-specific heart failure associated with CKD. It is advisable to conduct not only clinical but also the clinical and economic studies, it should be borne in mind that the results of foreign researchers, can not be fully used in Russia as there are significant differences in the organization of medical care, and in the range of medicinal products especially drugs, generics used to treat heart failure.

Key words: chronic kidney disease, chronic heart failure, epidemiology.

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) является одной из наиболее значимых медицинских, экономических и социальных проблем XXI в. По данным эпидемиологических исследований, распространенность ХСН в США и странах Западной Европы составляет от 1,9 до 2,5% [1, 2]. По данным исследования ЭПОХА-ХСН, распространенность ХСН в России составляет 8,9% [3]. В развитых странах ХСН является одной из наиболее частых причин госпитализации и составляет

около 5% от всех госпитализаций [4]. В течение двух лет умирают 24% больных с ХСН [5], а пятилетняя выживаемость составляет 45% [6].

Тесная функциональная взаимосвязь сердечно-сосудистой системы и почек обуславливает большое внимание к функциональному состоянию почек при различных сердечно-сосудистых заболеваниях. Установлено, что снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) является независимым фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [7, 8].

Несмотря на то, что в настоящее время в большинстве национальных рекомендаций [9–12] признается неблагоприятное влияние нарушения

Серов В.А. Кафедра терапии и профессиональных болезней медицинского факультета Ульяновского государственного университета. 432072, г. Ульяновск, ул. 40-летия Победы, д. 14, кв. 62. Тел.: (8422) 55-27-08. E-mail: Valery_serov@mail.ru

функции почек на течение ХСН, распространенность хронической болезни почек (ХБП) среди больных с ХСН изучена недостаточно. Нередко лечащие врачи не обращают внимание на функциональную способность почек. Так, Y. Amsalem и соавт. [13] снижение СКФ < 60 мл/мин/1,73 м² выявили у 57% из 4102 больных, госпитализированных в лечебные учреждения Израиля по поводу острой или хронической сердечной недостаточности, причем почти у 41% в диагнозе не было указания на нарушение функции почек.

К настоящему времени не проведено целевых крупномасштабных исследований распространенности ХБП среди больных с ХСН. Данные, изложенные в обзоре, в основном основаны на результатах исследований влияния ХБП на клиническое течение и прогноз больных с ХСН.

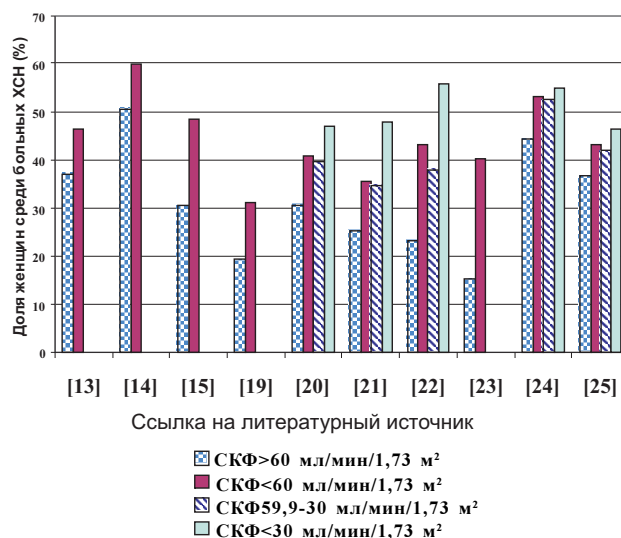
При метаанализе 15 исследований [13–27], проведенных в последние годы в разных странах, выявлен значительный разброс показателей распространенности ХСН, ассоциированной с ХБП (таблица).

Наиболее низкая распространенность (9,3%) отмечена К. Dimoroulos и соавт. [14] при обследовании 1102 больных в возрасте 36,0±14,2 года, причиной ХСН у которых были врожденные пороки сердца. Подавляющее большинство (86%) обследованных больных составляли пациенты с 1-2 функциональными классами (ФК) ХСН, причем, если среди больных с СКФ выше 90 мл/мин/1,73 м² I–II ФК ХСН был диагностирован у 90%, то при СКФ ниже 60 мл/мин/1,73 м² – только у 72% (p<0,0001). Статистически значимо различался и средний возраст в этих группах: 30,1±11,5 лет при сохранной функции почек и 50,4±16,1 года – при сниженной (p<0,0001).

Значительно более высокие показатели распространенности ХБП у больных с ХСН были выявлены S. Namaguchi и соавт. [25] – 71,2%, при этом следует отметить, что больные, включенные в исследование, были существенно старше и имели тяжелую ХСН. В то же время, только возраст и ФК ХСН не могут объяснить столь высокую распространенность ХБП, так как в ряде исследований [13, 18, 21], несмотря на сходные демографические и клинические характеристики обследованных больных, распространенность ХБП была значительно ниже.

Хотя в большинстве исследований среди больных с ХСН, ассоциированной с ХБП, преобладали мужчины, отмечался отчетливый рост числа женщин по мере снижения СКФ (рисунок).

Кроме того, эпидемиология ХСН, ассоциированной с ХБП, имеет расовые различия. Так, G.L. Smith



Доля женщин среди больных хронической сердечной недостаточностью при различной функции почек.

и соавт. [26] выявили СКФ ≤ 60 мл/мин/1,73 м² у 54% афро-американцев и у 68% белых больных с ХСН, причем каждое увеличение уровня креатинина сыворотки крови на 50 мкг/л было связано с возрастанием риска смерти на 10% у афро-американцев и на 15% у белых больных (p=0,0001).

Гендерные и расовые различия учитываются при определении СКФ по формуле MDRD [28]. В последние годы при расчете СКФ стали учитываться особенности отдельных групп населения (японцы, китайцы), для чего внесены изменения в формулы вычисления СКФ [29, 30].

По данным большинства исследователей [15, 20, 25], в анамнезе больных с ХСН, ассоциированной с ХБП, чаще выявляются артериальная гипертензия, сахарный диабет, гиперурикемия, анемия, перенесенный инфаркт миокарда, инсульт, чрескожная баллонная дилатация коронарных сосудов, аортокоронарное шунтирование, имплантация искусственного водителя ритма, проведение ресинхронизирующей терапии.

Как уже было отмечено выше, частота ХСН, ассоциированной с ХБП, увеличивается с возрастом пациентов. Вероятно, это связано с особенностями патофизиологии ХСН и ХБП в пожилом и старческом возрасте [31]. Патоморфологические изменения в сердце, возникающие при нарушении функции почек, подобны наблюдаемым в процессе старения [32]. Это же касается изменений сосудистой стенки [33] и эндотелиальной дисфункции [34], которые приводят как к ишемии миокарда, так и к повышению постнагрузки, ведущей, в свою очередь, к гипертрофии миокарда [35].

Фиброз миокарда, интрамуральное отложение кальция и коллагена ведут к повышению жесткости миокарда и развитию сначала диастолической,

а затем и систолической дисфункции. С увеличением возраста отмечается увеличение частоты диастолической сердечной недостаточности [36]. Состояние усугубляется уменьшением реактивности адренорецепторов и повышением уровня катехоламинов [37]. Следствием этих изменений является повышение риска ишемических повреждений органов и систем организма [38]. При снижении функции почек также наблюдаются гипертрофия миокарда левого желудочка, интерстициальный фиброз миокарда, атероматозное поражение крупных артериальных сосудов, увеличение ригидности коронарных артерий, аорты и периферических сосудов вследствие уменьшения количества эластических волокон и кальцификации интимы-меди [39, 40]. Утолщение интимы-меди сонных артерий выявляется уже при снижении СКФ ниже 60 мл/мин/1,73 м² [41].

Как было отмечено выше, значительную часть больных с ХСН, ассоциированной с ХБП, составляют женщины. Гендерные особенности течения сердечно-сосудистой патологии давно привлекают внимание исследователей. Установлено, что распространенность, клиническое течение, ответ на медикаментозную терапию и прогноз ряда сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе ХСН, у женщин имеют существенные особенности [42–44]. Показано, что артериальная гипертензия, диастолическая дисфункция левого желудочка, сахарный диабет, ожирение, гиподинамия, фибрилляция предсердий имеют большее значение в патогенезе развития ХСН у женщин, в то время как у мужчин наиболее значимыми факторами являются ишемическая болезнь сердца (ИБС) и систолическая дисфункция левого желудочка [20, 45, 46]. У женщин, по сравнению с мужчинами, ХСН развивается в более старшем возрасте, чаще выявляется сохранная систолическая функция левого желудочка [47–50].

Основную роль в гендерном различии клинической картины ХСН отводят секреции эстрогенов и андрогенов [51, 52]. Однако половые гормоны влияют не только на сердечно-сосудистую систему, но и на функциональное состояние почек [53]. S. Silbiger и соавт. [54], проведя анализ англоязычных источников за 1990–2007 гг., установили, что прогрессирование снижения функции почек при поликистозе почек, мембранозной нефропатии, IgA-нефропатии, хронической болезни почек неуточненной этиологии у мужчин имеет более быстрый характер. По мнению авторов, причины этого нужно искать в особенностях диеты, анатомического строения (размеров почки и почечных клубочков), различии в гломерулярной гемодинамике и в прямых

эффектах половых гормонов. С другой стороны, Q.L. Zhang и D. Rothenbacher [55] при анализе 26 крупных эпидемиологических исследований, проведенных в разных странах, пришли к выводу о более высокой распространенности ХБП среди женщин. С этим согласуются данные, полученные D. Nitsch и соавт. [56], R. Grabysa и M. Cholewa [57], при этом обращает на себя внимание значительно большая распространенность среди мужчин таких факторов риска ХБП, как курение, избыточная масса тела, гиперлипидемия, гиперурикемия, систолическая артериальная гипертензия.

Влияние половых гормонов на функционирование сердечно-сосудистой и мочевыделительной системы реализуется посредством целого ряда механизмов. Так, андрогены могут повышать, а эстрогены снижать активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [58–60]. Экспериментальные исследования, проведенные M.T. Gandolfo и соавт. [61], позволили установить существенную роль андрогенов в апоптозе ренальных клеток. D.H. Kang и соавт. [62] в эксперименте показали благоприятное влияние эстрогенов на внутрисердечную гемодинамику. Большую уязвимость сердечно-сосудистой системы у мужчин, а также женщин в постменопаузальном периоде, объясняют модулирующим эффектом эстрогенов на ренин-ангиотензин-альдостероновую систему, кальциевый обмен, а также влиянием половых гормонов на синтез и деградацию коллагена в миокарде [63]. M.L. Gross и соавт. [64] показали значимое увеличение интерстициальной ткани в миокарде у спонтанно гипертензивных (SHRsp) крыс с удаленными яичниками при вызванной экспериментально умеренной почечной дисфункции. Эстрадиол или эстриол уменьшали вызванные изменения. При сахарном диабете типов 1 и 2 значение женского пола, как нефропротективного фактора, снижается, что, вероятно, связано с нарушением регуляции уровня эстрогенов в крови [65].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как видно из представленных данных, распространенность ХБП среди больных с ХСН составляет от 9,2 при ХСН, обусловленной врожденными пороками сердца, до 71,2% при ХСН, обусловленной ишемической болезнью сердца (ИБС) и артериальной гипертензией. Снижение функции почек ассоциировано с возрастом и функциональным классом ХСН. Однако, если низкую частоту ХБП среди больных с ХСН с врожденными пороками сердца можно объяснить молодым возрастом и нетяжелой ХСН, то причины значительного различия в распространенности ХБП у больных с ХСН, обус-

Распространенность хронической болезни почек среди больных с хронической сердечной недостаточностью

Источник	Страна	Количество больных	Демографическая характеристика обследованных больных	Клиническая характеристика больных	Метод определения СКФ	Распространенность ХБП
Y. Amsalem и соавт. (2008) [13]	Израиль	3793	73 года, 43% женщин	III–IV ФК НУНА – 42%, ИБС – 82%, ФВ ЛЖ $\geq 50\%$ – 27%	MDRD	57%
K. Dimopoulos и соавт. (2008) [14]	Великобритания	1102	36,0 $\pm$ 14,2 года, 51,5% женщин	Причина ХСН – врожденные пороки сердца. I ФК НУНА – 61,1%; II ФК НУНА – 24,7%; III ФК НУНА – 13,1%; IV ФК НУНА – 1,1%	MDRD	9,3%
H.L. Hillege и соавт. (2006) [15]	Северная Америка (США, Канада)	2680	65,3 $\pm$ 11,6 года, 33,4% женщин	II ФК НУНА – 36,3%; III ФК НУНА – 60,9%; IV ФК НУНА – 2,8%. ИБС – 67,3%. Исключены пациенты с креатинином >265 мкмоль/л	MDRD	36%
J .K. Ghali и соавт. (2009) [16]	США и 13 стран Европы	3965	63,8 года, 45% женщин	II ФК НУНА – 41%; III ФК НУНА – 56%; IV ФК НУНА – 3%, ИБС – 66%, ФВ ЛЖ в среднем 28%	MDRD	37%
J . Ezekowitz и соавт. (2004) [17]	Канада	6427	69 лет, 35% женщин	ИБС – 100%	Cockcroft-Gault	39%
A.S. Go и соавт. (2006) [18]	Северная Каролина, США	59 772	72 года, 46% женщин	ИБС – 36%, ФВ ЛЖ неизвестна у 81,4%	MDRD	47%
A. Ahmed и соавт. (2007) [19]	США, Канада	7788	68,4 года, 35,8% женщин	I ФК НУНА – 14,1%; II ФК НУНА – 54,5%; III ФК НУНА – 29,4%; IV ФК НУНА – 2%. ИБС – 69%, ФВ ЛЖ $\leq 45\%$ – 87,3%. Исключены пациенты с креатинином $>2,5$ мг/дл	MDRD	45,3%
N. Shiba и соавт. (2008) [20]	Япония	920	68,3 $\pm$ 13,6 года, 34,9% женщин	II ФК НУНА – 80%; III-IV ФК НУНА – 20%, ИБС – 29%, ФВ ЛЖ $\leq 50\%$. Исключены пациенты, находящиеся на гемодиализе	MDRD, Cockcroft-Gault	MDRD - 26,7%, Cockcroft-Gault – 42,7%
R. de Silva и соавт. (2006) [21]	955	1216	71 $\pm$ 10,8 года, 31% женщин	I ФК НУНА – 12,8%; II ФК НУНА – 61,7%; III ФК НУНА – 24,3%; IV ФК НУНА – 1,3%. ИБС – 65,6%, ФВ ЛЖ в среднем 34,2%	MDRD	57%
F.A. McAlister и соавт. (2004) [22]	Канада	754	69 лет, 34% женщин	I ФК НУНА – 8%; II ФК НУНА – 37,6%; III ФК НУНА – 42%; IV ФК НУНА – 12,4%. ИБС – 69%, ФВ ЛЖ $\leq 50\%$ – 73%	Cockcroft-Gault	55,6%
E. Zamora и соавт. (2007) [23]	Испания	235	62,9 $\pm$ 11,4 года, 21,3% женщин	I ФК НУНА – 6%; II ФК НУНА – 52,7%; III ФК НУНА – 37,9%; IV ФК НУНА – 3,4%. ИБС – 56,6%, ФВ ЛЖ в среднем 32,3%	Cockcroft-Gault	24%
U.D. Patel и соавт. (2008) [24]	США	15 560	76 лет, 50,1% женщин	ИБС – 46,6%, ФВ ЛЖ в среднем 35%	MDRD	64,7%
S. Hamaguchi и соавт. (2009) [25]	Япония	2013	71,5 $\pm$ 13,0 года, 41,3% женщин	Средний ФК НУНА – 3,3 $\pm$ 0,7; ИБС – 32,3%, ФВ ЛЖ 42,5 $\pm$ 17,6%	MDRD	71,2%
G.L. Smith и соавт. (2005) [26]	США	53 640	79 $\pm$ 8 лет, 58% женщин	ИБС – 46,6%, ФВ ЛЖ в среднем 35%. Исключены пациенты моложе 65 лет, имеющие митральный или аортальный стеноз, находящиеся на гемодиализе	MDRD	66,5%,
О.В. Трошеникина и соавт. (2009) [27]	Россия	620	56,9 $\pm$ 10,4 года, 40,8% женщин	I ФК НУНА – 22,7%; II ФК НУНА – 61,5%; III ФК НУНА – 11,9%; IV ФК НУНА – 3,9%. ИБС – 77,7%	MDRD	34,4%

ловленной ИБС и артериальной гипертонией, остаются неясными. Требуется уточнения распространенности ХБП как среди больных с ХСН в целом, так и в отдельных группах больных. Необходимо уточнение причины гендерных особенностей ХСН, ассоциированной с ХБП. Целесообразно проведение не только клинических, но и клинико-экономических исследований, при этом следует учитывать, что результаты, полученные зарубежными исследователями, нельзя безоговорочно использовать в России, так как имеются значительные отличия как в организации медицинской помощи населению, так и в спектре медикаментозных препаратов, особенно препаратов-дженериков, используемых при лечении ХСН.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Rosamond W, Flegal K, Friday G et al. Heart disease and stroke statistics—2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2007; 115 (5): e 69–171
- Neumann T, Biermann J, Erbel R et al. Heart failure: the commonest reason for hospital admission in Germany: medical and economic perspectives. *Dtsch Arztebl Int* 2009; 106 (16): 269–275
- Фомин ИВ, Беленков ЮН, Мареев ВЮ. Распространенность ХСН в Европейской части Российской Федерации – данные ЭПОХА-ХСН. *Сердечная недостаточность* 2006; 7 (1): 4–7
- Rodríguez-Artalejo F, Banegas Banegas JR, Guallar-Castillón P. Epidemiology of heart failure. *Rev Esp Cardiol* 2004; 57 (2): 163–170
- Pocock SJ, Wang D, Pfeffer MA et al. Predictors of mortality and morbidity in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* 2006; 27 (1): 65–75
- Henkel DM, Redfield MM, Weston SA et al. Death in heart failure: a community perspective. *Circ Heart Fail* 2008; 1 (2): 91–97
- Chae CU, Albert CM, Glynn RJ et al. Mild renal insufficiency and risk of congestive heart failure in men and women > or =70 years of age. *Am J Cardiol* 2003; 92 (6): 682–686
- Facila L, Bertomeu V, Bertomeu-Gonzalez V et al. Association between renal function and cardiovascular disease in patients with left ventricular hypertrophy. VIIDA study. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2009; 11 (6): 303–308
- ACC/AHA 2005 Guideline Update for the Diagnosis and Management of Chronic Heart Failure in the Adult: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Update the 2001 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure): Developed in Collaboration With the American College of Chest Physicians and the International Society for Heart and Lung Transplantation: Endorsed by the Heart Rhythm Society. *Circulation* 2005; 112: e154–e235
- Canadian Cardiovascular Society Consensus Conference recommendations on heart failure update 2007: Prevention, management during intercurrent illness or acute decompensation, and use of biomarkers. *Can J Cardiol* 2007; 23 (1): 21–45
- Национальные Рекомендации ВНОК и ОССН по диагностике и лечению ХСН (второй пересмотр). *Сердечная недостаточность* 2007; 1: 4–41
- ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *European Heart Journal* 2008; 29 (19): 2388–2442
- Amsalem Y, Garty M, Schwartz R et al. Prevalence and significance of unrecognized renal insufficiency in patients with heart failure. *Eur Heart J* 2008; 29 (8): 1029–1036
- Dimopoulos K, Diller GP, Koltzida E et al. Prevalence, predictors, and prognostic value of renal dysfunction in adults with congenital heart disease. *Circulation* 2008; 117 (18): 2320–2328
- Hillege HL, Nisch D, Pfeffer MA et al. Renal function as a predictor of outcome in a broad spectrum of patients with heart failure. *Circulation* 2006; 113: 671–678
- Ghali JK, Wikstrand J, Van Veldhuisen DJ et al. The influence of renal function on clinical outcome and response to beta-blockade in systolic heart failure: insights from Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in Chronic HF (MERIT-HF). *J Card Fail* 2009; 15 (4): 310–318
- Ezekowitz J, McAlister FA, Humphries KH et al. The association among renal insufficiency, pharmacotherapy, and outcomes in 6,427 patients with heart failure and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44 (8): 1587–1592
- Go AS, Yang J, Ackerson LM et al. Hemoglobin level, chronic kidney disease, and the risks of death and hospitalization in adults with chronic heart failure: the Anemia in Chronic Heart Failure: Outcomes and Resource Utilization (ANCHOR) Study. *Circulation* 2006; 113 (23): 2713–2723
- Ahmed A, Rich MW, Sanders PW et al. Chronic kidney disease associated mortality in diastolic versus systolic heart failure: a propensity matched study. *Am J Cardiol* 2007; 99 (3): 393–398
- Shiba N, Matsuki M, Takahashi J et al. Prognostic importance of chronic kidney disease in Japanese patients with chronic heart failure. *Circ J* 2008; 72 (2): 173–178
- de Silva R, Nikitin NP, Witte KK et al. Incidence of renal dysfunction over 6 months in patients with chronic heart failure due to left ventricular systolic dysfunction: contributing factors and relationship to prognosis. *Eur Heart J* 2006; 27 (5): 569–581
- McAlister FA, Ezekowitz J, Tonelli M, Armstrong PW. Renal insufficiency and heart failure: prognostic and therapeutic implications from a prospective cohort study. *Circulation* 2004; 109 (8): 1004–1009
- Zamora E, Lupyn J, Urrutia A et al. Prognostic significance of creatinine clearance rate in patients with heart failure and normal serum creatinine. *Rev Esp Cardiol* 2007; 60 (12): 1315–1318
- Patel UD, Hernandez AF, Liang L et al. Quality of care and outcomes among patients with heart failure and chronic kidney disease: A Get With the Guidelines – Heart Failure Program study. *Am Heart J* 2008; 156 (4): 674–681
- Hamaguchi S, Tsuchihashi-Makaya M, Kinugawa S et al. Chronic Kidney Disease as an Independent Risk for Long-Term Adverse Outcomes in Patients Hospitalized With Heart Failure in Japan. *Circ J* 2009; 73 (8): 1442–1447
- Smith GL, Shlipak MG, Havranek EP et al. Race and renal impairment in heart failure: mortality in blacks versus whites. *Circulation* 2005; 111 (10): 1270–1277
- Трошенкина ОВ, Серов ВА, Шутов АМ и соавт. Распространенность хронической болезни почек у больных с хронической сердечной недостаточностью. Актуальные проблемы медицинской науки и образования. Сборник трудов II межрегиональной научной конференции. ИИЦ ПГУ Пенза, 2009; 245–246
- Levey AS, Bosch JP, Lewis JB et al. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999; 130 (6): 461–470
- Matsuo S, Imai E, Horio M et al. Revised equations for estimated GFR from serum creatinine in Japan. *Am J Kidney Dis* 2009; 53 (6): 982–992
- Zhao WY, Zeng L, Zhu YH et al. A comparison of prediction equations for estimating glomerular filtration rate in Chinese

potential living kidney donors. *Clin Transplant* 2009; 23 (4): 469–475

31. Шабалин АВ. Гериатрическая кардиология. Диагностика и лечение хронической сердечной недостаточности у больных пожилого возраста. В: Оганов Р.Г., Фомина И.Г. *Болезни сердца. Руководство для врачей*. Литтерра, М., 2006; 1225–1242

32. Spiecker M. Heart failure in elderly patients. *Exp Gerontol* 2006; 41 (5): 549–551

33. Yildiz O. Vascular smooth muscle and endothelial functions in aging. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1100: 353–360

34. Franzoni F, Ghiadoni L, Galetta F et al. Physical activity, plasma antioxidant capacity, and endothelium-dependent vasodilation in young and older men. *Am J Hypertens* 2005; 18 (4 Pt 1): 510–516

35. Oxenham H, Sharpe N. Cardiovascular aging and heart failure. *Eur J Heart Fail* 2003; 5 (4): 427–434

36. Bursi F, Weston SA, Redfield MM et al. Systolic and diastolic heart failure in the community. *JAMA* 2006; 296 (18): 2209–2216

37. Cheitlin MD. Cardiovascular physiology-changes with aging. *Am J Geriatr Cardiol* 2003; 12 (1): 9–13

38. O'Rourke MF, Hashimoto J. Mechanical factors in arterial aging: a clinical perspective. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50 (1): 1–13

39. Amann K, Tyralla K. Cardiovascular changes in chronic renal failure—pathogenesis and therapy. *Clin Nephrol* 2002; 58 Suppl 1: S62–72

40. Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM. Arterial structure and function in end-stage renal disease. *Curr Hypertens Rep* 2008; 10 (2): 107–111

41. Zhang L, Zhao F, Yang Y et al. Association between carotid artery intima-media thickness and early-stage CKD in a Chinese population. *Am J Kidney Dis* 2007; 49 (6): 786–792

42. Galvao M, Kalman J, DeMarco T et al. Gender differences in in-hospital management and outcomes in patients with decompensated heart failure: analysis from the Acute Decompensated Heart Failure National Registry (ADHERE). *J Card Fail* 2006; 12 (2): 100–107

43. Rosengren A, Hauptman P. Women, men and heart failure: a review. *Heart Fail Monit* 2008; 6 (1): 34–40

44. Терещенко СН, Жиров ИВ. Хроническая сердечная недостаточность у женщин. *Журнал Сердечная недостаточность* 2008; 6: 295–298

45. Lund LH, Mancini D. Heart failure in women. *Med Clin North Am* 2004; 88 (5): 1321–1345

46. O'Meara E, Clayton T, McEntegart MB et al. Sex differences in clinical characteristics and prognosis in a broad spectrum of patients with heart failure: results of the Candesartan in Heart failure: Assessment of Reduction in Mortality and morbidity (CHARM) program. *Circulation* 2007; 115 (24): 3111–3120

47. Deswal A, Bozkurt B. Comparison of morbidity in women versus men with heart failure and preserved ejection fraction. *Am J Cardiol* 2006; 97 (8): 1228–1231

48. Dagres N, Nieuwlaet R, Vardas PE et al. Gender-related differences in presentation, treatment, and outcome of patients with atrial fibrillation in Europe: a report from the Euro Heart Survey on Atrial Fibrillation. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49 (5): 572–577

49. Frazier CG, Alexander KP, Newby LK et al. Associations of gender and etiology with outcomes in heart failure with

systolic dysfunction: a pooled analysis of 5 randomized control trials. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49 (13): 1450–1458

50. Wiinber N, Hoegholm A, Christensen H et al. 24-h Ambulatory blood pressure in 352 normal Danish subjects, related to age and gender. *Am J Hypertens* 1995; 8: 978–986

51. Mahmoodzadeh S, Eder S, Nordmeyer J et al. Estrogen receptor alpha up-regulation and redistribution in human heart failure. *FASEB J* 2006; 20 (7): 926–934

52. Konhilas JP, Leinwand LA. The effects of biological sex and diet on the development of heart failure. *Circulation* 2007; 116: 2747–2759

53. Reckelhoff JF, Yanes LL, Iliescu R et al. Testosterone supplementation in aging men and women: possible impact on cardiovascular-renal disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289 (5): F941–948

54. Silbiger S, Neugarten J. Gender and human chronic renal disease. *Gen Med* 2008; 5 Suppl A: S3–S10

55. Zhang QL, Rothenbacher D. Prevalence of chronic kidney disease in population-based studies: systematic review. *BMC Public Health* 2008; 8: 117

56. Nitsch D, Felber Dietrich D, von Eckardstein A et al. Prevalence of renal impairment and its association with cardiovascular risk factors in a general population: results of the Swiss SAPALDIA study. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21 (4): 935–944

57. Grabysa R, Cholewa M. Predictors of chronic kidney disease in hypertensive patients. *Pol Merkur Lekarski* 2008; 25 (145): 9–14

58. Rogers JL, Mitchell AR, Maric C et al. Effect of sex hormones on renal estrogen and angiotensin type 1 receptors in female and male rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2007; 292: R794–R799

59. Kienitz T, Quinkler M. Testosterone and blood pressure regulation. *Kidney Blood Press Res* 2008; 31 (2): 71–79

60. Yanes LL, Sartori-Valinotti JC, Iliescu R et al. Testosterone-dependent hypertension and upregulation of intrarenal angiotensinogen in Dahl salt-sensitive rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 296 (4): F771–F779

61. Gandolfo MT, Verzola D, Salvatore F et al. Gender and the progression of chronic renal diseases: does apoptosis make the difference? *Minerva Urol Nefrol* 2004; 56 (1): 1–14

62. Kang DH, Yu ES, Yoon KI, Johnson R. The impact of gender on progression of renal disease: potential role of estrogen-mediated vascular endothelial growth factor regulation and vascular protection. *Am J Pathol* 2004; 164 (2): 679–688

63. Regitz-Zagrosek V, Lehmkuhl E, Lehmkuhl HB. Herzinsuffizienz – geschlechtsspezifische Aspekte? *Internist (Berl)* 2008; 49 (4): 422–428

64. Gross ML, Ritz E, Korsch M et al. Effects of estrogens on cardiovascular structure in uninephrectomized SHRsp rats. *Kidney Int* 2005; 67 (3): 849–857

65. Maric C, Sullivan S. Estrogens and the diabetic kidney. *Gen Med* 2008; 5 Suppl A: S103–113

66. Silverberg DS, Wexler D, Iaina A et al. Anemia, chronic renal disease and congestive heart failure – the cardio renal anemia syndrome: the need for cooperation between cardiologists and nephrologists. *Int Urol Nephrol* 2006; 38 (2): 295–310

Поступила в редакцию 26.01.2010 г.

Принята в печать 02.03.2010 г.

© А.А.Яковенко, А.Г.Кучер, А.Ш.Румянцев, 2010
УДК 616.61-008.64-036.11-085.38]-07:615.276.2

А.А. Яковенко¹, А.Г. Кучер¹, А.Ш. Румянцев¹

ЗНАЧЕНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 В ПАТОГЕНЕЗЕ «УРЕМИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ПИТАНИЯ» У ПАЦИЕНТОВ С ТЕРМИНАЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ, ПОЛУЧАЮЩИХ ЛЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕМОДИАЛИЗОМ

A.A. Yakovenko, A.G. Kucher, A.Sh. Rumyantsev

THE IMPORTANCE OF INTERLEUKIN-6 IN THE PATHOGENESIS OF «UREMIC MALNUTRITION» IN PATIENTS WITH END-STAGE RENAL DISEASE BEING TREATED FOR CHRONIC HEMODIALYSIS

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

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Уточнить значение интерлейкина-6 в патогенезе «уремической недостаточности питания» у пациентов с терминальной почечной недостаточностью, получающих лечение хроническим гемодиализом (ГД). **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Обследовали 86 больных с хронической болезнью почек V стадии, получающих лечение ГД, из них 40 женщин и 46 мужчин в возрасте $52,2 \pm 1,3$ года. Причиной терминальной почечной недостаточности (ТПН) во всех случаях был первичный гломерулонефрит. Все больные получали лечение программным гемодиализом в течение $6,4 \pm 1,1$ года. Для оценки ежедневного потребления белков, жиров, углеводов, общей калорийности рациона пациенты заполняли пищевые дневники в течение недели. Для оценки нутриционного статуса использовали калиперометрию и интегральную двухчастотную импедансометрию с помощью прибора КМ – АР – 01 фирмы «Диамант», Россия. У 78 пациентов определен спектр провоспалительных цитокинов – интерлейкины - 2, 6, 8, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), интерферон гамма (IFN- γ), TNF- α с помощью Human 8-plex A panel (171-A11080) фирмы Bio-rad, США, методом, основанным на селективном связывании определяемых цитокинов и сорбированных на поверхности микрочастиц антител. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Выявлена взаимосвязь между повышением уровня интерлейкина-6 и «уремической недостаточностью питания» у пациентов с терминальной почечной недостаточностью, получающих лечение хроническим гемодиализом. Показано, что увеличение длительности гемодиализной терапии сопровождается усилением признаков хронического воспаления. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Повышение уровня IL-6 сыворотки крови может являться одним из патогенетических факторов, участвующих в развитии «уремической недостаточности питания» у пациентов с терминальной почечной недостаточностью, получающих лечение хроническим гемодиализом.

Ключевые слова: недостаточность питания, интерлейкин-6, хроническое воспаление, гемодиализ.

ABSTRACT

THE AIM of the study. Clarify the meaning of interleukin-6 in the pathogenesis of «uremic malnutrition» in patients with end-stage renal disease (ERSD) receiving chronic hemodialysis (HD). **PATIENTS AND METHODS.** We examined 86 patients with chronic kidney disease stage V receiving HD treatment, including 40 women and 46 men aged 52.2 ± 1.3 years. The cause of TRD in all cases was primary glomerulonephritis. All patients received hemodialysis treatment program for 6.4 ± 1.1 years. To estimate the daily intake of protein, fats, carbohydrates, total caloric intake, patients filled out food diaries for a week. To assess the nutritional status using kaliperometry and integrated dual frequency impedansometry using an instrument KM - AR - 01 firm «Diamond», Russia. In 78 patients to determine the spectrum of pro-inflammatory cytokines - interleukins - 2, 6, 8, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), interferon gamma (IFN-g), TNF- α with the help of Human 8-plex A panel (171-A11080) company Bio-rad, USA, a method based on the selective binding of defined cytokines and sorbed on the surface of micro particle antibodies. **RESULTS.** The interrelation between increased levels of interleukin-6 and «uremic malnutrition» in patients with end-stage renal failure receiving chronic hemodialysis was detected. Was shown that the increase of the duration of hemodialysis therapy was accompanied by increased signs of chronic inflammation. **CONCLUSION.** Increased IL-6 serum may be one of pathogenetic factors involved in the development of «uremic malnutrition» in patients with end-stage renal failure receiving chronic hemodialysis.

Key words: malnutrition, interleukin-6, chronic inflammation, hemodialysis.

Яковенко А.А. 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6/8,
ГОУ ВПО СПбГМУ им. ак. И.П.Павлова Росздрава, р.т. (812)
234-91-94, факс (812) 234-01-25, E-mail: leptin-rulit@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных проблем современного гемодиализа является развитие недостаточности питания (НП) у больных, получающих лечение хроническим гемодиализом [1]. После пяти лет терапии гемодиализом (ГД) доля больных с НП составляет 40–50% и продолжает нарастать в дальнейшем [2]. Состояние питания является одним из независимых прогностических факторов заболеваемости и смертности у гемодиализных больных [1]. При наличии недостаточности питания, по данным В.А. Соорег и соавт. [3], риск смертности больных, получающих лечение ГД, увеличивается на 27%. Несмотря на актуальность данной проблемы, до настоящего момента не существует единой точки зрения на механизмы развития НП у больных на ГД.

Основными причинами НП являются снижение потребления основных нутриентов, увеличение их потерь, метаболические нарушения, свойственные самой терминальной почечной недостаточности (ТПН), а также влияние факторов, связанных с процедурой ГД [4, 5], в частности, накопление токсической фракции пептидов средней молекулярной массы, в норме выводимой почками [4, 5]. Не менее важной представляется роль хронического воспаления в развитии недостаточности питания у больных на ГД [6, 7].

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 расхода энергии и снижение содержания жира в организме [8, 9].

Вышеотмеченные изменения полностью 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 [10, 11], привели к мнению, что хроническое воспаление, наблюдаемое у гемодиализных больных, является одним из причинных факторов для развития недостаточности питания у этой группы пациентов [6, 7].

В ходе данной работы нами была проанализирована роль одного из наиболее значимых провоспалительных цитокинов интерлейкина-6 (IL-6) в развитии НП у больных на ГД.

Цель исследования. Уточнить значение интерлейкина-6 в патогенезе «уремической недостаточности питания» у пациентов с ТПН, получающих лечение хроническим гемодиализом.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследовали 86 больных с хронической болезнью почек V стадии, получающих лечение ГД, из них 40 женщин и 46 мужчин в возрасте $52,2 \pm 1,3$ года. Причиной ТПН во всех случаях был первичный гломерулонефрит.

Все больные получали лечение программным гемодиализом в течение $6,4 \pm 1,1$ года. Лечение проводилось бикарбонатным ГД на аппаратах «искусственная почка» фирм «Hospal Integra», «Bellco», «Braun», «Fresenius» с использованием воды, подвергнутой глубокой очистке методом обратного осмоса, капиллярных диализаторов с площадью $1,2 - 2,0$ м². Сеансы диализа проводились три раза в неделю, по 4 – 5,5 ч. У всех пациентов проведено традиционное клинико-лабораторное обследование. Для оценки ежедневного потребления белков, жиров, углеводов, общей калорийности рациона пациенты заполняли пищевые дневники, где указывался качественный и количественный состав потребляемой ими пищи в течение недели [12]. Для оценки нутриционного статуса использовали калиперометрию с расчетом жировой массы тела (содержание жира в организме должно составлять 10–23% от общей массы тела), окружности мышц плеча (ОМП) (нормальной считалась окружность в пределах 23–25,5 см у мужчин и 21–23 см у женщин), активной массы тела [13]. Кроме того, больным выполнялась интегральная двухчастотная импедансометрия с помощью прибора КМ – АР – 01 фирмы «Диамант», Россия, с определением мышечной (нормальным считали диапазон 23,1 – 27% от общей массы тела) и жировой массы (нормальным считали диапазон 10 – 23% от общей массы тела) [13]. Оценка состояния питания больного производилась с помощью метода комплексной нутриционной оценки [13, 14]. За нормативы по потреблению основных питательных веществ были взяты нормы, рекомендованные Американской ассоциацией диетологов [15].

Иммунологическое обследование образцов сыворотки больных проводилось в лабораториях Научно-методического центра по молекулярной медицине на базе Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова под руководством д-ра мед. наук, проф. А.А.Тотоляна.

Исследование иммунологического статуса пациентов включало в себя определение спектра про-

воспалительных цитокинов – интерлейкины-2, 6, 8, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), интерферон гамма (IFN- γ), TNF- α с помощью Human 8-plex A panel (171-A11080) фирмы Bio-rad, США, методом, основанным на селективном связывании определяемых цитокинов и сорбированных на поверхности микрочастиц антител [16]. Диапазон нормальных значений для основных иммунологических показателей был взят с учетом аналогичных показателей, полученных в ходе обследования 13 практически здоровых добровольцев, из них 6 женщин и 7 мужчин, что составила 46,2 и 53,8% соответственно, возраст добровольцев колебался от 21 до 67 лет, средний возраст $51,11 \pm 1,78$ лет, что полностью сопоставимо по полу и возрасту с исследуемой группой больных. У добровольцев строго контролировалось отсутствие эпизодов острых воспалительных реакций или обострения хронических воспалительных заболеваний в течение месяца до момента обследования. Результаты представлены в табл. 1.

Материал для исследования был получен вне зависимости от состояния натошак и собран непосредственно перед сеансом ГД. Образцы венозной крови забирали по стандартной методике в пробирки типа Vacutainer (Becton Dickenson, США), и доставляли в лабораторию в течение одного часа. Сыворотку отделяли центрифугированием при 1000 об/мин в течение 10 мин, а затем помещали в пластиковые пробирки для микропроб однократного применения 1,5 см³ (ОАО «Фирма Медполимер», СПб) и хранили при

температуре -25°C , вплоть до момента исследования.

Статистический анализ проводили с использованием параметрических и непараметрических методов при помощи пакета прикладных программ Statistica, ver 6,0. Статистически значимой считали величину двустороннего $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

С учетом данных о заболеваниях, приведших к развитию ТПН, были получены следующие результаты, представленные в табл. 2.

Достоверных различий по возрасту и полу между подгруппами пациентов с различными диагнозами выявлено не было. Как видно, преобладали больные с мембранозно-пролиферативным гломерулонефритом (48,8%) ($p < 0,001$). Число женщин оказалось несколько меньше, чем мужчин, однако различия были недостоверны.

У 4 (4,5%) больных имел место гепатит В, у 26 (30%) был диагностирован гепатит С, у 3 (3,5%) больных было сочетание гепатита С+В, у большинства больных – 62% (53 пациента) гепатит диагностирован не был ($p < 0,001$). При этом следует отметить, что при обследовании больных с гепатитами клинических и лабораторных данных в пользу активности заболевания получено не было.

В табл. 3 представлены основные клинико-лабораторные показатели обследованных больных.

В целом группа характеризовалась наличием умеренной анемии, лимфопении, гипоальбуминемии при сохранении уровня общего белка на нижней границе нормы. Показатели общего

холестерина и триглицеридов колебались в пределах варианта нормы. Уровень азотемии и показатели электролитного обмена соответствовали ТПН. Величина показателя Кt/V свидетельствовала об адекватности дозы ГД. Показатели кислотно-основного состояния свидетель-

Концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке доноров крови (n=13)

Показатель	n	Mean	m	5% ДИ	95% ДИ	Минимальные значения	Максимальные значения
IL-2, пг/мл	13	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
IL-6, пг/мл	13	0,026	0,014	- 0,004	0,057	0,000	0,123
IL-8, пг/мл	13	0,935	0,233	0,427	1,444	0,000	2,371
GM-CSF, пг/мл	13	0,284	0,284	- 0,335	0,905	0,000	3,704
IFN- γ , пг/мл	13	1,098	0,771	- 0,581	2,779	0,000	9,864
TNF- α , пг/мл	13	0,270	0,108	0,033	0,506	0,000	1,170

Таблица 1

Распределение пациентов по полу, возрасту и основной патологии почек, приведшей к терминальной почечной недостаточности

Диагноз	Всего	Мужчины	Женщины	Возраст, лет
Всего	86	46	40	52,2 $\pm$ 1,3
Первичный	42	23	19	50,1 $\pm$ 1,7
хронический	8	3	5	57,8 $\pm$ 2,2
гломерулонефрит	11	6	5	61,2 $\pm$ 6,0
без морфологической верификации	25	14	11	49,4 $\pm$ 4,5

Таблица 2

Таблица 3

Клинико-лабораторные показатели обследованных больных

Показатель	Величина
Гемоглобин, г/л	87,69±1,67
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,7±0,36
Общий белок, г/л	64,62±0,51
Альбумин, г/л	30,51±0,35
Холестерин, ммоль/л	4,62±0,12
Триглицериды, ммоль/л	1,51±0,12
Креатинин, до ГД, ммоль/л	1,05±0,02
Мочевина, до ГД, ммоль/л	30,02±0,72
Калий, до ГД, ммоль/л	5,76±0,08
Натрий, до ГД, ммоль/л	139,36±0,32
Кальций, до ГД, ммоль/л	2,26±0,03
Фосфор, до ГД, ммоль/л	2,03±0,07
Kt/V, у.е.	1,35±0,02
pH	7,36±0,01
SB, ммоль/л	20,5±0,3
BE	-5,27±0,48

Таблица 5

Результаты оценки степени тяжести недостаточности питания в зависимости от пола

Пол	I степень	II степень
Женщины	35	5
%	45,5 %	46,7 %
Мужчины	40	6
%	54,5 %	53,3 %
Всего	75	11

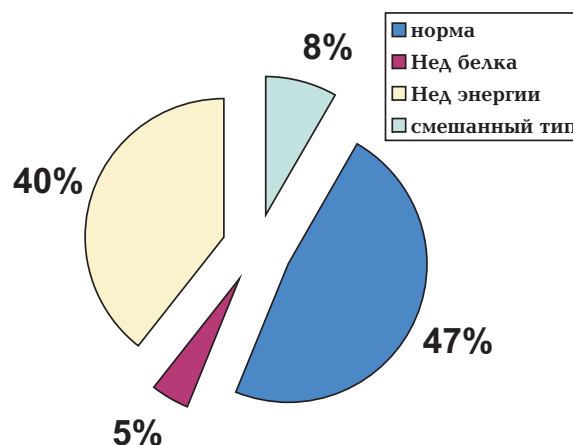


Рис. 1. Распределение больных по типам адекватности потребления основных питательных веществ. Норма – нормальное питание, Нед. белка – недостаточное потребление белка, Нед. энергии – недостаточное потребление калорий, смешанный тип – недостаточное потребление белка и калорий.

ствовавали о наличие незначительного метаболического ацидоза.

Данные антропометрических показателей и показателей состава тела, полученные по данным калиперометрии и биоимпедансометрии, приведены в табл. 4.

Показатели фактической массы тела и ИМТ достоверно не отличались между мужчинами и женщинами, при этом ИМТ у мужчин варьировал в пределах варианта нормы, а у женщин – несколько превышал предельно допустимые значения. С учетом отношения ФМТ/РМТ у женщин отмечалась склонность к ожирению, при этом мужчины характеризовались тенденцией к сохранению нормального масса тела ($p < 0,001$). Как по данным калиперометрии, так и по результатам биоимпедансометрии, у мужчин показатели жировой массы были нормальными, а у женщин – повышенными ($p < 0,001$). Показатели мышечной массы были снижены у мужчин и у женщин, независимо от используемого метода определения. Однако, по данным биоимпедансометрии, мышечная масса была достоверно выше у мужчин по сравнению с женщинами ($p < 0,001$), по

данным калиперометрии, эти различия были недостоверны ($p = 0,840$). При этом показатели мышечной массы, по данным биоимпедансометрии, как у мужчин, так и у женщин, были ниже предельно допустимых величин.

При проведении оценки нутриционного статуса больных с помощью комплексного метода нутриционной оценки были получены следующие данные, представленные в табл. 5.

У всех пациентов выявлены признаки НП, НП I степени определялась у 75 больных (87%), НП II степени – у 11 больных (13%), более тяжелых степеней НП выявлено не было.

Таблица 4

Основные антропометрические показатели и показатели состава тела, полученные по данным калиперометрии и биоимпедансометрии, в зависимости от пола

Показатель	Женщины	Мужчины	p
Фактическая масса тела, кг	65,6±2,7	71,9±1,8	0,059
Рекомендуемая масса тела, кг	53,02±0,43	71,92±0,69	<0,001
ФМТ/РМТ, %	123,62±0,91	99,69±0,27	<0,001
ИМТ, кг/м ²	25,3±0,9	23,5±0,5	0,072
Кожно-жировая складка над трицепсом по данным калиперометрии, мм	17,26±0,31	11,31±0,73	<0,001
Жировая масса по данным калиперометрии, %	34,08±0,83	21,63±0,84	<0,001
Окружность плеча, см	28,3±0,7	28,1±0,4	0,840
ОМП по данным калиперометрии, см	22,54±0,70	24,59±0,36	0,840
Жировая масса по данным биоимпедансометрии, %	25,98±1,41	16,38±1,42	<0,001
Мышечная масса по данным биоимпедансометрии, %	12,17±0,22	13,81±0,19	<0,001

Лабораторные данные в зависимости от степени тяжести недостаточности питания

Показатели	Недостаточность питания I ст., n=75	Недостаточность питания II ст., n=11	p
Гемоглобин, г/л	87,96±1,75	85,81±5,52	0,1
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1662±67	1578±225	0,670
Общий белок, г/л	65,16±0,46	60,9±2,3	0,005
Альбумин, г/л	30,86±0,33	28,09±1,42	0,008
Холестерин, ммоль/л	4,67±0,13	4,25±0,25	0,1
Триглицериды, ммоль/л	2,16±0,13	1,67±0,17	0,179
Креатинин до ГД, ммоль/л	1,07±0,02	0,90±0,07	0,1
Мочевина до ГД, ммоль/л	30,31±0,73	27,9±2,64	0,1
Калий до ГД, ммоль/л	5,77±0,08	5,66±0,26	0,1
Натрий до ГД, ммоль/л	139,35±0,33	139,43±1,03	0,1
Кальций до ГД, ммоль/л	2,25±0,03	2,31±0,05	0,1
Фосфор до ГД, ммоль/л	2,04±0,07	1,89±0,19	0,1
Kt/V, у.е.	1,36±0,02	1,30±0,07	0,444
pH	7,36±0,01	7,39±0,02	0,199
SB, ммоль/л	20,5±0,3	21,0±1,3	0,657
BE	-5,34±0,49	-4,81±1,80	0,717

Результаты адекватности потребления основных питательных веществ представлены на рис. 1.

Больные, питавшиеся адекватно, составляли не более половины всех обследованных (47%). Среди вариантов неадекватного питания преобладала недостаточная энергообеспеченность (40%) ($p=0,0007$).

При оценке основных клинико-лабораторных показателей с учетом степени тяжести недостаточности питания были получены следующие результаты, представленные в табл. 6.

Среди представленных показателей лишь концентрация общего белка и альбумина крови дос-

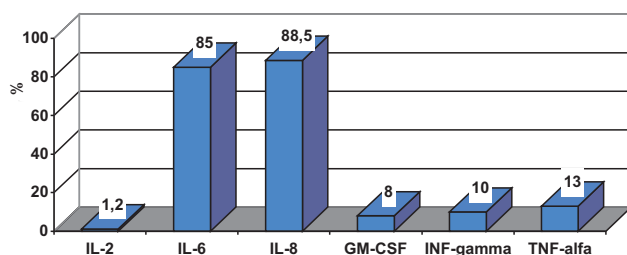


Рис. 2. Частота встречаемости повышения уровня основных иммунных показателей.

товерно снижались по мере прогрессирования НП ($p<0,005$ и $p<0,008$ соответственно).

Характер изменений антропометрических показателей и показателей состава тела, полученный по данным калиперометрии и биоимпедансометрии, в зависимости от наличия НП представлен в табл. 7.

Как видно из таблицы, ИМТ у пациентов с I-II степенью тяжести НП оставался в пределах нормальных значений. Отношение ФМТ/РМТ при I степени НП было выше нормы, а при II степени НП несколько ниже нормы. При нарастании степени НП достоверно снижались ИМТ и отношение ФМТ/РМТ ($p<0,002$ и

$p<0,017$ соответственно). Достоверных различий между величиной жировой массы, как по данным калиперометрии, так и по данным биоимпедансометрии, в зависимости от степени тяжести НП выявлено не было. Достоверных различий между величиной мышечной массы, по данным биоимпедансометрии, в зависимости от степени тяжести НП выявлено не было, в то же время отмечалось достоверное снижение показателя мышечной массы по данным калиперометрии ($p<0,02$).

При определении уровня основных иммунных показателей у 78 пациентов были получены следующие результаты, представленные на рис. 2.

Больные, характеризующиеся повышенным уровнем IL-6 и IL-8, достоверно преобладали над больными с нормальным уровнем данных показателей ($p<0,001$ и $p<0,001$ соответственно).

При определении влияния уровня IL-6 сыворотки крови на основные клинико-лабораторные показатели были получены следующие результаты, представленные в табл. 8.

Достоверного влияния уровня IL-6 на основные клинико-лабораторные показатели (общий белок,

Антропометрические показатели и показатели состава тела, полученные по данным калиперометрии и биоимпедансометрии, в зависимости от степени тяжести недостаточности питания

Показатели	Недостаточность питания I степени, n=75	Недостаточность питания II степени, n=11	p
ФМТ/РМТ, %	113,2±2,8	94,3±6,0	0,017
ИМТ, $\text{кг}/\text{м}^2$	24,9±0,5	20,3±1,1	0,002
Кожно-жировая складка над трицепсом по данным калиперометрии, мм	14,4±0,6	11,5±2,1	0,135
Жировая масса по данным калиперометрии, %	27,52±0,90	26,75±3,4	0,774
ОМП по данным калиперометрии, см	23,98±0,42	21,30±0,79	0,02
Жировая масса по данным биоимпедансометрии, %	21,52±1,24	16,19±2,64	0,161
Мышечная масса по данным биоимпедансометрии, %	12,96±0,18	13,61±0,46	0,264

Таблица 7

Клинико-лабораторные показатели в зависимости от уровня IL-6 сыворотки крови

Показатели	Нормальный уровень IL-6, n=12	Повышенный уровень IL-6, n=66	p
Лимфоциты, $\times 10^9$ /лтыс.	1.96 $\pm$ 160	1.59 $\pm$ 71	0,045
Общий белок, г/л	66,5 $\pm$ 0,9	64,4 $\pm$ 0,6	<0,1
Альбумин, г/л	31,1 $\pm$ 0,9	30,3 $\pm$ 0,4	<0,1
Холестерин, ммоль/л	4,9 $\pm$ 0,3	4,6 $\pm$ 0,1	<0,1
Триглицериды, ммоль/л	2,4 $\pm$ 0,2	2,1 $\pm$ 0,1	<0,1
Креатинин, до ГД, ммоль/л	1,06 $\pm$ 0,06	1,04 $\pm$ 0,02	<0,1
Kt/V, у.е.	1,36 $\pm$ 0,07	1,36 $\pm$ 0,03	<0,1

альбумин, холестерин, триглицериды, креатинин, Kt/V) выявлено не было. Отмечался достоверно более низкий уровень лимфоцитов ($p < 0,045$) у больных с повышенным уровнем IL-6 по сравнению с пациентами с нормальным уровнем IL-6 плазмы крови.

Влияние уровня IL-6 сыворотки крови на характер изменений антропометрических показателей и показателей состава тела, полученных по данным калиперометрии и биоимпедансометрии, представлено в табл. 9.

Достоверного влияния уровня IL-6 на основные антропометрические показатели и показатели состава тела, полученные по данным калиперометрии и биоимпедансометрии, выявлено не было, за

исключением достоверного снижения величины кожно-жировой складки над трицепсом по данным калиперометрии ($p < 0,033$) у больных с повышенным уровнем IL-6 по сравнению с пациентами с нормальным уровнем IL-6 сыворотки крови.

При проведении корреляционного анализа уровня IL-6 и длительности ГД получены результаты, представленные на рис. 3.

Получена достоверная позитивная корреляция между уровнем IL-6 и длительностью ГД.

ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении исследования у 78 больных, получающих лечение хроническим ГД, было проведено мультиплексное определение панели провоспалительных цитокинов, при этом достоверное увеличение в сыворотке крови было выявлено только уровня IL-6 и IL-8 (85 и 88,5% соответственно).

В ходе исследования не было выявлено никаких достоверных взаимосвязей между уровнем IL-6 и основными лабораторными показателями нутриционного статуса. В то же самое время при исследовании влияния высоких уровней IL-6 сыворотки крови на антропометрические показатели нутриционного статуса нами было выявлено достоверное снижение одного из основных калиперометрических показателей жировой массы тела – кожно-жировой складки над трицепсом – при повышении уровня как IL-6. Взаимосвязей между уровнем IL-6 и показателями мышечной ткани нами выявлено не было.

У больных, получающих лечение хроническим ГД, имеет место тенденция к сосуществованию признаков НП и признаков хронического воспаления. В настоящее время считается, что влияние IL-6 на показатели жировой ткани обусловлено влиянием на энергетический гомеостаз, снижением потребления энергии и увеличением расходование энергии [17, 18] посредством следующих механизмов:

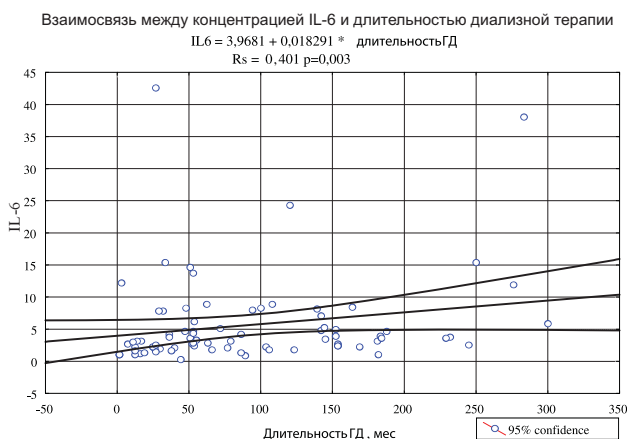


Рис. 3. Данные корреляционного анализа уровня IL-6 и длительности ГД.

Таблица 9

Данные антропометрических показателей и показателей состава тела, полученных по данным калиперометрии и биоимпедансометрии, в зависимости от уровня IL-6 сыворотки крови

Показатели	Нормальный уровень IL-6, n=12	Повышенный уровень IL-6, n=66	p
ФМТ/РМТ, %	121,3 $\pm$ 6,7	110,3 $\pm$ 3,1	<0,1
ИМТ, кг/м ²	26,0 $\pm$ 1,1	24,2 $\pm$ 0,6	<0,1
Кожно-жировая складка над трицепсом по данным калиперометрии, мм	17,6 $\pm$ 1,6	13,6 $\pm$ 0,7	0,033
Жировая масса по данным калиперометрии, %	30,2 $\pm$ 2,3	27,2 $\pm$ 1,0	<0,1
Жировая масса по данным биоимпедансометрии, %	23,9 $\pm$ 2,6	21,4 $\pm$ 1,4	<0,1
Мышечная масса по данным биоимпедансометрии, %	20,3 $\pm$ 0,7	21,0 $\pm$ 0,3	<0,1
ОМП по данным калиперометрии, см	24,1 $\pm$ 0,6	23,4 $\pm$ 0,4	<0,1

1. Прямого ингибирующего влияния ряда провоспалительных цитокинов на центр насыщения.

2. Ингибирующего влияния на адипогенез и снижения секреции адипоксатина.

3. Угнетения синтеза липопротеинлипаз в адипоцитах, что ведет к снижению синтеза жирных кислот и увеличивает расщепление жира в жировых клетках.

4. Супрессии генов факторов липогенеза.

5. Стимулирования апоптоза адипоцитов.

При проведении статистической обработки материала нами была получена положительная взаимосвязь между уровнем IL-6 сыворотки крови и длительностью ГД, что указывает на усиление выраженности хронического воспаления в зависимости от срока ГД. Принимая во внимания данные, свидетельствующие о роли хронического воспаления в патогенезе развития НП, а также факт, свидетельствующий об усилении признаков хронического воспаления в зависимости от сроков гемодиализа, можно сделать вывод, что хроническое воспаление, являясь значимым фактором развития НП у гемодиализных больных, усиливает свое влияние при увеличении сроков ГД-терапии. Таким образом, можно думать, что у клинически стабильных гемодиализных больных повышение IL-6 является фактором «позднего» развития НП. В таком случае слабую выраженность влияния хронического воспаления на развития НП в нашем исследовании можно объяснять не только клинической стабильностью больных, но и относительно небольшим средним сроком гемодиализной терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Увеличение длительности гемодиализной терапии сопровождается усилением признаков хронического воспаления.

2. Повышение уровня IL-6 сыворотки крови является важным патогенетическим звеном в развитии «уремической недостаточности питания» у пациентов с терминальной почечной недостаточностью, получающих лечение хроническим гемодиализом.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Carvalho KT, Silva MI, Bregman R. Nutritional profile of patients with chronic renal failure. *J Ren Nutr* 2004; 14 (2): 97-100
2. Walser M. Dialysis and protein malnutrition. *Kidney Int* 1999; 56 (1): 353
3. Cooper BA, Penne EL, Bartlett LH, Pollock CA. Protein malnutrition and hypoalbuminemia as predictors of vascular events and mortality in ESRD. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 61-66
4. Kopple JD. National Kidney Foundation K/DOQI clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 2001; 37 (2): 66-70
5. Beddhu S. The body mass index paradox and an obesity, inflammation, and atherosclerosis syndrome in chronic kidney disease. *Semin Dial (Cambridge, MO)* 2004; 17 (3): 229-232
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. 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
9. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89 (6): 2548-2556
10. 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
11. 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
12. Румянцев АШ, Кучер АГ, Костерева ЕМ и др. Применение пищевых дневников на гемодиализе. *Сборник материалов рабочего совещания нефрологов Северо-Запада России. 16 мая 1996 Санкт-Петербург, Россия.* – СПб. 1996: 55
13. Руководство по диетологии / Под ред. А. Ю. Барановского. – Питер, СПб, 2001: 544 – (Серия «Современная медицина»)
14. Joint WHO/FAO Expert Consultation on Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation. *Geneva, Switzerland: World Health Organization* 2003
15. Beto JA, Bansal VK, Hart J et al. Hemodialysis prognostic nutrition index as a predictor for morbidity and mortality in hemodialysis patients and its correlation to adequacy of dialysis. *J Ren Nutr* 1999; 9 (1): 2-8
16. Elkord E, Williams PE, Kynaston H, Rowbottom AW. Human monocyte isolation methods influence cytokine production from in vitro generated dendritic cells. *Immunology* 2005; 114 (2): 204-212
17. Kalantar-Zadeh K, Block G, McAllister CJ et al. Appetite and inflammation, nutrition, anemia and clinical outcome in hemodialysis patients. *Am J Clin Nutr* 2004; 80 (2): 299-307
18. Hallikainen M, Kolehmainen M, Schwab U et al. Serum adipokines are associated with cholesterol metabolism in the metabolic syndrome. *Clin Chim Acta* 2007; 383 (1-2): 126-132

Поступила в редакцию 07.12.2009 г.

Принята в печать 02.03.2010 г.

© Т.В.Мухоедова, З.М.Унароков, 2010
УДК 616.61+616.12]-005.98-08

Т.В. Мухоедова¹, З.М. Унароков¹

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ SUSTAINED LOW EFFICIENCY DIALYSIS (SLED) - ТЕХНОЛОГИЙ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ ТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ КАРДИОРЕНАЛЬНОГО СИНДРОМА С ДИУРЕТИК-РЕФРАКТЕРНЫМИ ОТЕКАМИ

T.V. Mukhoedova, Z.M. Unarokov

EXPERIENCE OF SUSTAINED LOW EFFICIENCY DIALYSIS (SLED)-METHODS RENAL REPLACEMENT THERAPY IN TREATMENT CARDIORENAL SYNDROME WITH DIURETIC-REFRACTORY EDEMAS

¹ Отделение гемодиализа и экстракорпоральной детоксикации Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения им. акад. Е.Н.Мешалкина, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Оценить эффективность и безопасность гибридных методов заместительной почечной терапии в лечении диуретик-рефрактерной объемной перегрузки при острой декомпенсации хронической сердечной недостаточности. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Пролечено 14 кардиохирургических больных в до- и послеоперационном периоде с острой объемной перегрузкой и массивными диуретик-рефрактерными отеками на фоне острой декомпенсации ХСН III–IV ФК по классификации NYHA. Проводилась гемофильтрация/гемодиофильтрация online в режиме sustained low efficiency dialysis (SLED) по адаптированной технологии, с удалением избыточной жидкости 2457±128 мл за сеанс, а также использование низких потоков диализата/субституата и безацетатного раствора «Кребсол». **РЕЗУЛЬТАТЫ.** В 13 случаях достигнута стабильная регрессия объемной перегрузки, включая периферических отеки, улучшение центральной гемодинамики, водовыделительной функции почек и чувствительности к диуретикам. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** SLED-технологии могут быть достаточно эффективным методом в лечении диуретик-рефрактерных отеков у больных с острой декомпенсацией ХСН. Адаптированный режим лечения, включающий ультрафильтрацию под контролем опции online мониторинга объема циркулирующей крови (BVM), использование самых низких потоков диализата/субституата (6 л/ч) и применение полностью безацетатного раствора «Кребсол», позволил значительно снизить риск осложнений у больных со спровоцированной гемодинамикой.

Ключевые слова: сердечная недостаточность, гемофильтрация, ультрафильтрация, кардиоренальный синдром, диуретик-рефрактерные отеки.

ABSTRACT

THE AIM. To evaluate an efficiency and safety of SLED-HF/HDF (hybrid methods of renal replacement therapy) in patients with congestive heart failure and refractory volume overload. **PATIENTS AND METHODS.** Fourteen patients with acute decompensated heart failure and acute volume overload and diuretic-refractory edemas were given SLED-HF/HDF before and after cardiac surgery. Parameters SLED-HF/HDF including: fluid removal 2457±128 ml during procedure, using low dialysate flow and acetate-free dialysate («Krebsol»). **RESULTS.** Edemas' and volume overloads regression, improvement of central and pulmonary hemodynamic and renal dysfunctions were achieved in 13 patients. **CONCLUSION.** Adapted parameters SLED-therapy including on-line blood volume monitoring, using low dialysate flow (6 l/hour), acetate-free dialysate («Krebsol») allowed to reduce complications (hypotension and arrhythmia).

Key words: heart failure, haemofiltration, ultrafiltration, cardiorenal syndrome, diuretic- refractory edemas.

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая сердечная недостаточность III–IV ФК NYHA с диуретик-рефрактерными отеками занимает одну из ведущих причин в структуре госпитальной летальности во всем мире. Негативные последствия объемной перегрузки при острой декомпенсации ХСН (дХСН) включают прежде всего ухудшение сердечно-легочных дисфункций,

включая отек легких. Согласно классификации сердечной недостаточности группы ADQI, 2005 г., острая декомпенсация ХСН относится к классу IIIb (дХСН) и существенно отличается от класса I и II, т.е. критических состояний при острой сердечной недостаточности с объемной перегрузкой, почечными и полиорганными дисфункциями. У больных с острой объемной перегрузкой на фоне дХСН часто регистрируются предшествующие ренальные дисфункции вследствие низкого сердечного выброса и гипоперфузии почек. Как правило, это

Мухоедова Т.В. Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения. 630055, г.Новосибирск, ул. Речуновская, д.15, тел.: (8-383)332-76-22; E-mail: mukhoedova@mail.ru

преренальная почечная недостаточность со сниженной скоростью клубочковой фильтрации (СКФ), но при интактных канальцах [1]. Эта ренальная дисфункция чрезвычайно лабильна и при острой декомпенсации ХСН может прогрессировать даже до степени острого почечного повреждения – АКІ (acute kidney injury), но без клинически значимой уремии. В патофизиологии данного состояния, обозначенного по другой классификации как «кардиоренальный синдром I или II типа», ключевым фактором считается высокая активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, участвует также ремоделирование миокарда с низкой фракцией выброса левого желудочка, не исключены воспалительные механизмы. Ведущей клинической проблемой в этих ситуациях является диуретик-рефрактерность [2–4]. Кроме того, применение больших доз диуретиков потенциально опасно как прямым тубулотоксическим эффектом, так и агрессивным диурезом с развитием аритмий, гиповолемии и снижения СКФ. В лечении объемной перегрузки при дХСН методом выбора признана ультрафильтрация (УФ) с помощью различных модальностей заместительной почечной терапии (ЗПТ).

Именно к этой категории больных обращено наше исследование. Применение ЗПТ в лечении диуретик-рефрактерной объемной перегрузки известно с 70-х годов прошлого века, когда в этих ситуациях использовалась интермиттирующая изолированная ультрафильтрация (ИУФ). Данный метод оказался недостаточно эффективным для стабильной регрессии и объемной перегрузки *per se*, и в частности, периферических отеков, а при отеке легких не получено убедительного уменьшения внутрилегочной воды. Кроме того, ИУФ часто индуцирует деплецию внутрисосудистого сектора, гемодинамические осложнения (гипотензия, аритмии) и ишемическое повреждение почек. Как фатальное осложнение, описана гиперкалиемия, обычно отсроченная и независимая от исходного уровня плазменного калия [5–8].

В последующие годы в лечении острой объемной перегрузки при дХСН были апробированы современные технологии ЗПТ, обычно используемые при критических состояниях с острой сердечной недостаточностью и полиорганными дисфункциями – непрерывная ультрафильтрация (НУФ) и непрерывная гемофильтрация или гемодиализация (НГФ/НГДФ). В целом, многочисленные литературные данные свидетельствуют об эффективности ультрафильтрации как таковой в уменьшении общей воды тела и улучшении центральной гемодинамики. При этом в лечении объем-

ной перегрузки не только при критических состояниях, но и при дХСН без полиорганных дисфункций явное предпочтение отдается НГФ [1]. Как известно из многочисленных исследований, касающихся критических состояний, главным преимуществом непрерывной ЗПТ является лучшая гемодинамическая переносимость. Это обусловлено медленным удалением избыточной воды и соли, причем из всех секторов, включая интерстициальный, внутрилегочный и клеточный. Постепенная дегидратация всех секторов поддерживает нормоволемию с оптимизацией пред- и постнагрузки. Кроме того, у больных с острой дХСН непрерывная ЗПТ, в отличие от интермиттирующей ИУФ, оказывает стабильный пролонгированный эффект благодаря снижению активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы.

Ряд дальнейших работ показали, что сравнительная эффективность различных методов непрерывной ЗПТ (НГФ/НГДФ или НУФ) у больных с дХСН неравноценна. По мнению большинства, НГФ предпочтительнее, чем НУФ, даже в отсутствие сердечно-легочных дисфункций, требующих ИВЛ и инотропной поддержки. Аргументация авторов основана на различных возможностях этих методов. Принципиально важными механизмами непрерывной ЗПТ на высокопроницаемых мембранах является конвективная элиминация биологически агрессивных субстратов как миокарддепрессивный фактор и вазоактивные медиаторы, которые вносят значимый вклад в дХСН [9]. Степень этой элиминации несопоставимо выше при НГФ, по сравнению с НУФ, поскольку не лимитирована относительно небольшим объемом только удаленной жидкости, а зависит от объема замещенной жидкости тела. Преимущества конвективного транспорта через высокопроницаемые мембраны в лечении диуретик-рефрактерных отеков при дХСН подтверждают и последние публикации. Наконец, по сравнению с НУФ, НГФ способна удалять большее количество соли, избыток которой всегда имеется при дХСН, несмотря на ложную гипонатриемию разведения [10–13].

Тем не менее, выбор оптимального метода ЗПТ для лечения диуретик-рефрактерных отеков при дХСН остается дискуссионным. Поскольку непрерывная ЗПТ требует специального обеспечения и высоких экономических затрат, в последние годы отмечается возврат интереса к интермиттирующим диализным технологиям, но уже в более щадящем режиме, чем ИУФ в 70–80 гг. Имеются даже попытки лечения амбулаторных больных с массивными периферическими отеками на специальном диализном модуле [14, 15]. Исследования

проводились на небольших группах и результаты пока неоднозначны для интерпретации. Данных о применении с этой целью SLED-технологий (sustained low-efficiency dialysis) [16], в том числе у больных кардиохирургического профиля с острой дХСН, в доступной литературе не найдено. Между тем именно SLED-технологии, или так называемые «гибридные» методы ЗПТ, активно обсуждаются в литературе последних лет как возможная альтернатива непрерывной ЗПТ. Гибридные методы проводятся на обычной диализной аппаратуре в виде ежедневных сеансов, но более длительных и в менее интенсивном режиме, чем традиционный гемодиализ. К их достоинствам относятся невысокие экономические затраты, по сравнению с непрерывной ЗПТ, и меньший риск гемодинамических осложнений, по сравнению с традиционным гемодиализом. В целом, SLED-технологии занимают промежуточное положение, хотя при критических состояниях вопрос о сравнительной эффективности SLED и непрерывной ЗПТ остается открытым.

Цель исследования: оценка эффективности и безопасности SLED-технологий в разработанном нами режиме у кардиохирургических больных с острой декомпенсацией ХСН и диуретик-рефрактерными отеками, но без критических состояний и полиорганых дисфункций.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Нами проведено лечение 14 больных в возрасте от 34 до 68 лет, с ХСН III–IV ФК NYHA, рефрактерной к диуретикам (табл. 1). Основным заболеванием преимущественно являлись клапанные пороки. Обращает внимание высокая частота повторных операций на сердце (42,8%), что объясняет сниженную сократительную способность миокарда: в большинстве случаев фракция выброса левого желудочка была значительно ниже нормальной (минимальная 28%).

У всех больных имелись массивные периферические и полостные отеки, диспноэ, рентгенологические признаки перегрузки малого круга, у двух –

интерстициальный отёк лёгких. В 85% случаев снижение водовыделительной функции почек сопровождалось умеренной азотемией. Но критерии AKI в стадии «I» или «F» по классификации RIFLE найдены только в 50%, при этом клинических симптомов уремии не регистрировалось, и уровень азотемии был невысок. Олигурия (диурез менее 0,5 мл/кг/ч) в течение 6 ч зарегистрирована у 4 больных, у остальных суточный диурез на фоне стимуляции фуросемидом составлял от 900 до 2200 мл. Ни один больной не нуждался в респираторной и инотропной поддержке. Начало лечения: у 6 больных – в дооперационном периоде, из них у 2 – продолжено после операции; у остальных 8 больных – с 8 ± 1 суток после операции.

Проводилась SLED-гемофильтрация или гемодиализация в режиме online на аппаратах 4008S и 5008 (фирмы Fresenius). Выбор конкретного метода (гемофильтрация или гемодиализация) определялся показателями азотемии и кислотно-основного баланса. Использовались гемофильтры с высокопроницаемыми мембранами AV-600 и FX-80, скорость кровотока 120–200 мл/мин; поток диализата/субституата 6–12, реже 18 л/ч. Концентрация натрия и бикарбоната, температура растворов подбирались индивидуально. Антикоагуляция нефракционированным гепарином – под контролем активированного времени свёртывания. Общий объём удалённой жидкости составил $17\,650 \pm 3\,118$ мл. Продолжительность сеансов 6–10 ч курс от 3 до 15, в среднем 7. У больных с высоким риском гемодинамических осложнений (с мерцательной аритмией, периперационным инфарктом миокарда) скорость диализата /субституата была минимальной (6–12 л/ч), с постепенным увеличением до 18 л/ч. Кроме того, у части больных после первых сеансов потребовался перевод с обычного бикарбонатного раствора на полностью безацетатный раствор «Кребсол» (НПО «Нефрон», Россия). Для контроля безопасной скорости УФ у всех пациентов использовалась опция online мониторинга объёма циркулирующей крови (BVM).

Полученные результаты обрабатывали с помощью параметрического t-критерия Стьюдента с определением среднего арифметического значения $\bar{X}$ и его стандартной ошибки m . Анализ данных выполнен с использованием программы Biostatd для Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Положительный эффект получен у 13 из 14 больных (табл. 2). Уменьшение воды тела за курс составило $10,4 \pm 1$, максимально 16 л. У всех 13 пациентов достигнуты регрессия отёков и диспноэ.

Таблица 1

Характеристика пролеченных больных

Всего больных	14
Возраст, лет	$52 \pm 2,6$
Пол: мужской	8
женский	6
Основное заболевание:	
клапанные пороки	10
ИБС	4
из них повторные операции	6
NYHA III–IV ФК	14
Фракция выброса ЛЖ, %	$43,5 \pm 3,45$
APACHE II, баллы	$17 \pm 1,1$

Динамика клинико-лабораторных симптомов у больных с дХСН при SLED - ГФ / ГДФ

Таблица 2

Показатель	До лечения	После лечения
Масса тела, кг	95,2 ± 10	84,7 ± 9,7*
Диурез, мл/сут	1282 ± 181,9	2215 ± 371,9*
Суточная доза фуросемида, мг	226 ± 61	98 ± 18*
ЦВД, мм рт. ст.	21,8 ± 1,5	14 ± 1,8*
ДЛА (среднее), мм. рт. ст.	41,1 ± 3,5	27,6 ± 2,4*
Гипонатриемия, ммоль/л (n=8)	128 ± 1,6	135 ± 0,7*
Мочевина, ммоль/л (n=7)	23,8 ± 2	12,7 ± 1,7*
Креатинин, мкм/л (n=7)	196 ± 19	144 ± 15*

*Различия достоверны (p<0,05) по сравнению с исходными показателями.

Зарегистрировано значительное достоверное снижение центрального венозного давления (ЦВД) и давления в лёгочной артерии (ДЛА).

Параллельно показателям гемодинамики отмечено улучшение ренальных функций: разрешение олигурии, достоверное увеличение суточного диуреза и восстановление чувствительности к диуретикам. У больных с повышенной азотемией и исходной гипонатриемией разведения достигнута стабильная коррекция этих нарушений гомеостаза.

ОБСУЖДЕНИЕ

Отдельного внимания заслуживает скорость ультрафильтрации, т.е. негативного водного баланса. В различных публикациях скорость удаления жидкости у больных с объемной перегрузкой, обусловленной дХСН, варьирует в широком диапазоне. Гемодинамическая толерантность к ультрафильтрации индивидуальна и определяется скоростью восполнения удаленной жидкости в сосудистый сектор из внесосудистого. Если скорость УФ равна скорости ее поступления из интерстиция («рефиллинг»), то внутрисосудистый объем будет поддерживаться. Так, G. Marenzi и соавт. [17] показали, что интермиттирующая ИУФ 4,8 л за сеанс (в среднем 500–550 мл/ч) требует рефиллинга не менее 800 мл/ч на начало и 400 мл/ч к концу сеанса. По мнению С. Ronco и соавт., поскольку у больных с сердечно-сосудистой недостаточностью гидродинамические закономерности Старлинга и капиллярный дренаж из интерстициального сектора существенно нарушены, то агрессивная ультрафильтрация может повреждать кардиальные и ренальные функции [18]. Иными словами, при высокой скорости удаления жидкости артериальное русло не успевает восполняться, что приводит к гиповолемии, гипотензии и снижению органной перфузии. Это подтверждают результаты лечения объемной перегрузки при дХСН, приведенные в исследовании M. Redfield [15]. Авторы проводили

ИУФ в течение 8 ч со скоростью 500 мл/ч. В результате у 7 из 11 пациентов отмечено выраженное прогрессирование исходно умеренных ренальных дисфункций, потребовавшее гемодиализа. В нашей группе объем удаленной жидкости составил 2457 ± 128 мл за сеанс, т.е. 100–350 мл/ч. Эти параметры соответствуют кардиопротективному режиму ЗПТ у больных с нестабильной гемодинамикой, рекомендуемому в большинстве публикаций [19–21]. Кроме того, для контроля безопасной скорости УФ мы использовали опцию online мониторинга объема циркулирующей крови (BVM). Это также позволило поддерживать стабильный внутрисосудистый объем и в зависимости от его динамики изменять скорость УФ.

В целом, отмечена хорошая переносимость SLED-терапии: в подавляющем большинстве случаев АД, частота сердечных сокращений и температура тела во время сеансов оставались стабильными. Тем не менее, во время 11 сеансов (11,5% от общего числа сеансов) зарегистрированы следующие осложнения: в 6 случаях – преходящие эпизоды артериальной гипотензии; в 4 – тахикардия и в 1 случае – преходящий пароксизм фибрилляции предсердий. Помимо снижения скорости ультрафильтрации, у 6 больных потребовался перевод на полностью безацетатный раствор «Кребсол», что позволило в дальнейшем предотвратить повторные осложнения и продолжить курс SLED-терапии. Известно, что ацетат может индуцировать интрадиализную гипотензию и нарушения ритма. Хотя обычный бикарбонатный диализирующий раствор содержит незначительное количество ацетата (от 3 до 6 ммоль/л), в ряде исследований обращается внимание на повышенное содержание ацетата в крови после бикарбонатного диализа, в среднем, в 4 раза [22, 23]. По данным японских авторов, после интермиттирующей online гемодиализации 12 л/сеанс концентрация ацетата в крови может повышаться уже в 10 раз. В этой связи у больных с нестабильной гемодинамикой нам представляется рациональным использование полностью безацетатного раствора «Кребсол» (фирма «Нефрон»). Более того, по нашему мнению, именно в применении диализирующих растворов, полностью свободных от ацетата, имеется резерв для увеличения гемодинамической безопасности при любых интермиттирующих методах ЗПТ.

Следует отметить, что зарегистрированные осложнения также соответствуют последним сообщениям о том, что при критических состояниях SLED-технологии также уступают непрерывной

ЗПТ в гемодинамической безопасности. Приводится различная частота интрадиализных гипотензий (до 15–27%), а R. Bellomo указывает на увеличение средней дозы инотропной поддержки в 1,4 раза во время сеансов ГДФ в режиме SLED [24–26]. В этом аспекте применяемый нами адаптированный режим SLED – ГФ/ГДФ, снижающий риск осложнений, представляется перспективным для данной категории больных с дХСН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По нашим данным, SLED-гемофильтрация и гемодиализация на высокопроницаемых мембранах в режиме online достаточно эффективна в лечении диуретик-рефрактерных отеков при острой декомпенсации хронической сердечной недостаточности у кардиохирургических больных в до- и послеоперационном периоде. Кроме стабильной регрессии водной перегрузки, данный вид ЗПТ оказывает благоприятное влияние на гемодинамику большого и малого круга и ренальные дисфункции. Гемодинамическая безопасность обеспечивается адаптированным режимом, в том числе применением диализирующего раствора «Кребсол», полностью свободного от ацетата.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Clark WR, Paganini E, Weinstein D et al. Report from the Acute Dialysis Quality Initiative. *Int J Artif Organs*. 2005; 28 (5)
- Cadnapaphornchai MA, Gurevich AK, Weinberger HD et al. Pathophysiology of sodium and water retention in heart failure. *Cardiology*. 2001; 96:122-131
- Boerigter G, Burnet JC. Cardiorenal syndrome in decompensated heart failure: prognostic and therapeutic implications. *Curr Heart Fail Rep* 2004; 1(3): 113-120
- Ronco C, Chionh C-Y, Haapio M et al. The Cardiorenal Syndrome. *Blood Purif* 2009; 27: 114-126
- Henderson LW, Besarab A, Michaelis A et al. Blood purification by ultrafiltration and fluid replacement (diafiltration). *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1967; 13: 216-226
- Silverstein ME, Ford CA, Lysaght MT et al. Treatment of severe fluid overload by ultrafiltration. *N Engl J Med* 1974; 291: 747-751
- Magilligan DJ. Indications for ultrafiltration in the cardiac surgical patient. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1985; 89(2): 183-189
- Ronco C, Ricci Z, Bellomo R et al. Extracorporeal ultrafiltration for the treatment of overhydration and congestive heart failure. *Cardiology* 2001; 96: 155-168
- Libetta C, Sepe V, Zucchi M et al. Intermittent haemodiafiltration in refractory congestive heart failure: BNP and balance of inflammatory cytokines. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22 (7): 2013-2019
- Canaud B, Leblanc M, Leray-Moragues H et al. Slow continuous and daily ultrafiltration for refractory congestive heart failure. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13 (Suppl 4): 51-55
- Mehta RL. Fluid management in CRRT. *Contrib Nephrol* 2001; 132: 335-348
- Ronco C, Bellomo R, Ricci Z. Hemodynamic response to fluid withdrawal in overhydrated patients treated with intermittent ultrafiltration and slow continuous ultrafiltration: role of blood volume monitoring. *Cardiology* 2001; 96: 196-201
- Osobohien DS. Renal ultrafiltration (UF) for heart failure (HF). *Blood Purif* 2008; 26(5): 447
- Dahle TG, Blake D, Ali SS et al. Large volume ultrafiltration for acute decompensated heart failure using standard peripheral intravenous catheters. *J Card Fail* 2006; 12(5): 349-352
- Liang KV, Hincir AR, Williams AW et al. Use of a novel ultrafiltration device as a treatment strategy for diuretic resistant, refractory heart failure: initial clinical experience in a single center. *J Card Fail* 2006; 12(9): 707-714
- Tolwani AJ, Wheeler TS, Wille KM. Sustained Low-Efficiency Dialysis. In: C. Ronco, R. Bellomo, JA. Kellum eds: *Acute Kidney Injury*. *Contrib Nephrol*. Basel, Karger, 2007; 156: 320–324
- Marenzi G, Agostoni P. Hemofiltration in heart failure. *Int J Artif Organs* 2004; 27(12): 1070-1076
- Ronco C, Ricci Z. Renal replacement therapies: physiological review. *Intensive Care Med* 2008; 38: 2139-2146
- Marenzi G, Lauri G, Grazi M et al. Circulatory response to fluid overload removal by extracorporeal ultrafiltration in refractory congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 963-968
- Dileo M, Pacitti A, Bergeron S et al. Ultrafiltration in the treatment of refractory congestive heart failure. *Clin Cardiol* 1988; 11/7: 449-452
- Costanzo MR, Saltsberg M, O'Sullivan J, Sobotka P. Early ultrafiltration in patients with decompensated heart failure and diuretic resistance. *J Am Coll Card* 2005; 46(11): 2047-2051
- Fournier G, Potier J, Thebaud H-E et al. Substitution of acetic acid for hydrochloric acid in the bicarbonate buffered dialysate. *Intern Soc for Artifical Org* 1998; 22(7): 608-613
- Pizzarelli F, Cerrai T, Dattolo P et al. On-line haemodiafiltration with and without acetate. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(6):1648-1651
- Naka T, Baldwin I, Bellomo R et al. Prolonged daily intermittent renal replacement therapy in ICU patients by ICU nurses and ICU physicians. *Int J Artif Organs* 2004; 27(5): 380-387
- Yegenaga I, Vanholder R, Hoste E et al. Study of hemodynamic disturbances during slow extended daily hemodialysis vs continuous renal replacement therapy in acute renal failure patients in the intensive care unit. *Blood Purif* 2004; 22: 240-241
- Lima EQ, Fernandes A, Zanon J et al. Preventing intradialytic hypotension in acute kidney injury patients submitted to slow low efficiency dialysis (SLED). *Blood Purif* 2008; 26: 179-180

Поступила в редакцию 26.10.2009 г.
Принята в печать 02.03.2010 г.

© Н.В.Мотина, Я.Ф.Зверев, А.В.Лепилов, В.В.Лампатов, А.Ю.Жариков, О.С.Талалаева, 2010
УДК 616.613-003.7-07:616.61-001]-092.4

*Н.В. Мотина¹, Я.Ф. Зверев², А.В. Лепилов³, В.В. Лампатов², А.Ю. Жариков²,
О.С. Талалаева²*

ОКСИДАТИВНОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ПОЧЕК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОКСАЛАТНОМ НЕФРОЛИТИАЗЕ

*N.V. Motina, Ya.F. Zverev, A.V. Lepilov, V.V. Lampatov, A.Yu. Zharikov,
O.S. Talalaeva*

OXIDATIVE DAMAGE OF KIDNEY IN EXPERIMENTAL OXALATE NEPHROLITHIASIS

Кафедры ¹ гистологии, ² фармакологии, ³ патологической анатомии Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬЮ ИССЛЕДОВАНИЯ явилось сопоставление структурной перестройки почек при нефролитиазе с показателями свободнорадикального окисления в крови и тканях почек. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Эксперимент выполнен на крысах линии Wistar, получавших в качестве питья 1% водный раствор этиленгликоля на протяжении 42 сут. Морфологически в почечных срезах оценивали изменения мозгового вещества почки, особенности распределения депозитов кальция, расположение соединительнотканых элементов. Биохимическими методами оценивали окислительный и антиоксидантный статус почек и крови. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** В ходе эксперимента в срезах почек наблюдалось отложение кальциевых нефролитов в области почечного сосочка с разрастанием соединительной ткани. Развитие нефролитиаза сопровождалось активацией свободнорадикального окисления почек и крови и ослаблением антиоксидантной защиты, обусловленное угнетением активности глутатионпероксидазы. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Таким образом, при моделировании мочекаменной болезни нами отмечена прямая связь между активацией свободнорадикального окисления и развитием оксалатного нефролитиаза.

Ключевые слова: экспериментальный нефролитиаз, морфология, почки, свободнорадикальное окисление.

ABSTRACT

THE AIM of the study was a comparison of the structural adjustment of the kidneys in nephrolithiasis with indicators of free-radical oxidation in blood and tissues of the kidneys. **MATERIAL AND METHODS.** The experiment was performed on Wistar rats, treated as a drinking a 1% aqueous solution of ethylene glycol for 42 days. Morphologically in the kidney sections was assessed changes in the kidney medulla, especially the distribution of calcium deposits, the location of the connective tissue elements. Biochemical methods evaluated oxidative and antioxidative status of kidneys and blood. **RESULTS.** In the course of the experiment in slices of kidney calcium deposition was observed in the renal papilla with the growth of connective tissue. The development of nephrolithiasis associated with activation of free-radical oxidation of the kidneys and blood, and the weakening of antioxidant defense due to the inhibition of glutathione peroxidase. **CONCLUSION.** Thus, when modeling urolithiasis we noted a direct correlation between the activation of free-radical oxidation in the development of oxalate nephrolithiasis

Key words. experimental nephrolithiasis, morphology, kidneys, free-radical oxidation.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время около 10% населения страдают мочекаменной болезнью [1], что обуславливает актуальность исследований, связанных с выявлением отдельных звеньев ее этиопатогенеза, лечения и профилактики.

Показано, что в начальных стадиях заболевания кристаллы оксалата кальция способны индуцировать тканевые реакции в эпителии дистальных почечных канальцев и собирательных трубок [2,

3]. По мнению приведенных авторов, возникающие воспалительные изменения являются результатом прямого повреждающего воздействия кристаллов. Не исключено, что этот процесс связан с образованием активных форм кислорода, что создает условия для адгезии кристаллов солей и формирования очага кристаллизации с последующей активацией процессов агрегации и образования микролита. Продолжение роста и увеличение камня происходит уже в просвете чашечно-лоханочной.

Цель. Сопоставить структурную перестройку почек при нефролитиазе у крыс с показателями свободнорадикального окисления в крови и тканях почек.

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

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальная модель оксалатного нефролитиаза была выполнена на самцах крыс линии Wistar массой 180–250 г, которые в течение 6 нед получали 1% водный раствор этиленгликоля. Контролем служили интактные животные, потреблявшие в качестве питья обычную водопроводную воду.

Для гистологического исследования животных декапитировали под эфирным наркозом. Материалом исследования служила почка крысы. Орган фиксировали в 10% растворе формалина, обрабатывали по стандартной методике, заливали в парафин. Поперечные срезы через почечный сосочек толщиной 6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Оценивали характер изменений коркового и мозгового вещества почки: состояние сосудистых клубочков, капсулы почечного тельца, канальцев нефронов, собирательных трубок.

Для выявления отложений соединений кальция использовали импрегнацию серебром по методу Косса с контролем реакции 0,1% раствором соляной кислоты [4]. Оценивали характер отложения и распределения кальциевых депозитов, их средние размеры, особенности локализации в тканях почки и обратимость вызванных этиленгликолем изменений.

Для определения и оценки степени зрелости соединительной ткани использовали окраску на фибрин по MSB-методу (Marcius-Scarlett-Blue) в модификации Д.Д. Зербино. Для определения общей функциональной жизнеспособности клеточных популяций почек использовали полихромную методику окраски сафранином-О (Т) по А.Н. Яцковскому [5], дающую возможность судить о клеточной активности по степени конденсации хроматина.

Свободнорадикальное окисление оценивали по показателям оксидантного и антиоксидантного статуса. Оксидантный статус определяли в крови и гомогенате коркового вещества почки. Оценивали общую оксидантную активность по интенсивности окраски флюоресцентного комплекса, образующегося при взаимодействии продуктов перекисного окисления ТВИН-80 с тиобарбитуровой кислотой. В почке определяли концентрацию малонового диальдегида (МДА) и других тиобарбитурат-реактивных продуктов окисления жирных кислот (ТБРП).

Антиоксидантная система была исследована в гомогенате коркового вещества почки и гемолизате эритроцитов. Определяли общую антиоксидантную активность и активность ферментов – каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГПО). Общую антиокси-

дантную активность оценивали по степени ингибирования Fe^{2+} /аскорбат-индуцированного окисления ТВИН-80 гомогенатом ткани (гемолизат эритроцитов). Активность КАТ определяли по подавлению ферментом окисления молибдата натрия перекисью водорода, СОД – по содержанию в пробе нитроформазана (продукт восстановления нитротетразолия супероксидными радикалами), ГПО – по реакции неокисленного глутатиона с реактивом Элмана.

Морфометрические исследования проводили с использованием программных пакетов ImageJ 1.34 и AxioVision 3.1. Результаты работы представлены в виде значений $\bar{X}$ (средняя), m (ошибка средней), $p < 0,05$. Результаты обрабатывали статистическим методом вариационных рядов с использованием критерия Стьюдента. Оценку межгрупповых различий проводили по критерию Данна (SigmaStat 3.5 для Windows, Systat Software, Inc., США, 2006).

РЕЗУЛЬТАТЫ

У животных контрольной группы наблюдали нормальную гистологическую картину строения коркового и мозгового вещества почки. Диаметр собирательных трубок на вершине и по ходу почечного сосочка характеризовался однородностью, в среднем составлял $19,3 \pm 1,41$ мкм. Кальциевые депозиты у крыс интактной группы гистохимически не верифицированы.

На 3-й неделе после начала потребления этиленгликоля в почках наблюдались деформация почечных телец, полнокровие, расширение капиллярных петель сосудистых клубочков. Отмечались признаки гиалиново-капельной дистрофии эпителиоцитов проксимальных и дистальных канальцев: неровная, фестончатая апикальная поверхность, пикнотичные ядра, эозинофильная зернистость в цитоплазме. Наблюдались слущенный эпителий и белковые депозиты в просвете канальцев.

В мозговом веществе отмечалось расширение системы собирательных трубок, причем наибольшего размера были собирательные трубки на вершине почечного сосочка (до 56,6 мкм), очаговая интерстициальная и субэпителиальная (под переходным эпителием) лимфогистиоцитарная инфильтрация. Отмечалось снижение функциональной активности эпителиоцитов собирательных трубок на всем протяжении почечного сосочка, с максимальной выраженностью в области основания, средней трети и, частично, верхушки почечного сосочка. Изменения эпителиоцитов собирательных трубок характеризовались мозаичностью. В области средней трети сосочка и его верхушки обнаруживались признаки как гиалиново-капельной, так и гидропической дистрофии. В области основания

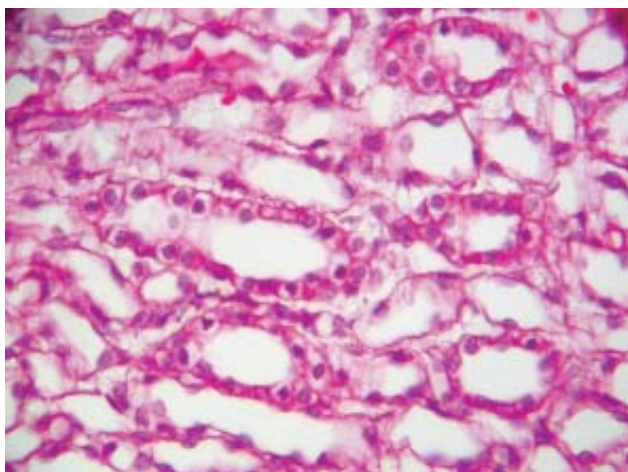


Рис. 1. Экспериментальный нефролитиаз 21 сут. Признаки гидропической дистрофии в эпителиоцитах собирательных трубок области основания почечного сосочка. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400.

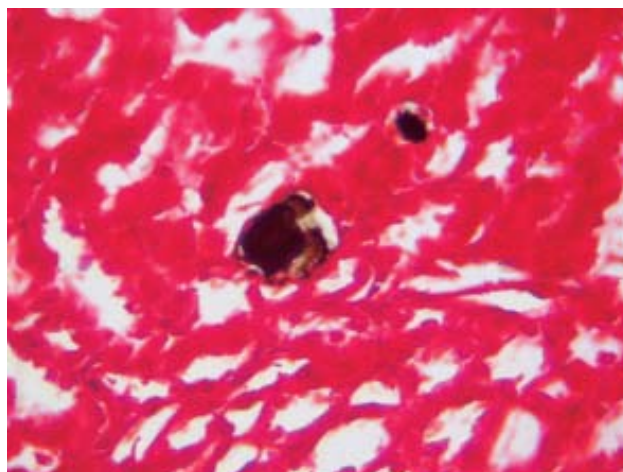


Рис. 2. Экспериментальный нефролитиаз 21 сут. Микролиты в просвете собирательных трубок. Окраска по Коссу. Ув. 400.

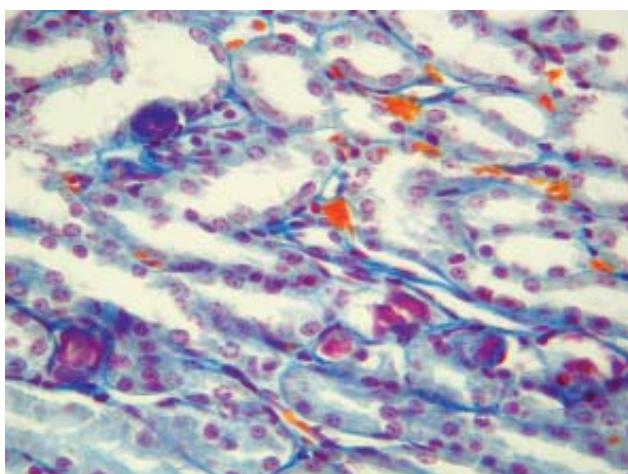


Рис. 3. Склеротические изменения стенок собирательных трубок и интерстиция почки, перифокально участкам отложения кальциевых депозитов. Окраска MSB. Ув. 400.

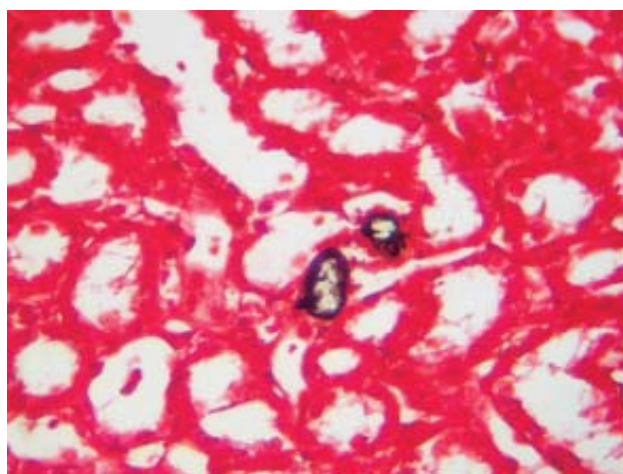


Рис. 4. Экспериментальный нефролитиаз 42 сут. Выраженная инкрустация эпителия собирательных трубок. Окраска по Коссу. Ув. 400.

сосочка преобладали изменения эпителия по типу гидропической дистрофии (рис. 1).

Множественные мелкие кристаллы кальция обнаруживались в эпителии канальцев и собирательных трубок, в интерстиции мозгового вещества, в просветах собирательных трубок в составе белковых цилиндров. Характерной являлась локализация соединений кальция – преимущественно в области основания и средней трети почечного сосочка. В составе эпителия на вершине почечного сосочка количество микролитов было менее значительным. В поле зрения определялись умеренные количества кальциевых депозитов величиной в среднем $3,6 \pm 0,11$ мкм. Выявлялась инкрустация эпителия собирательных трубок соединениями кальция. В 10% наблюдений обнаруживались довольно крупные микролиты (размером до 30 мкм) с obturation просвета собирательных трубок (рис. 2). В областях отложения кальция опре-

делись разрастания соединительной ткани с формированием перитубулярного и периваскулярного фиброза (рис. 3).

При биохимическом исследовании в гомогенате коркового вещества почки животных подопытной группы общая оксидантная активность (концентрация МДА и ТБРП) увеличивалась по сравнению с плазмой крови в три раза, в то время как у интактных животных она не отличалась от показателей в крови (табл. 1, 2). Общая антиоксидантная активность в нефроцитах крыс была в три раза ниже, чем в крови. Различия активности глутатионпероксидазы в крови и почках были выражены меньше, а сравнение показателей каталазы и супероксиддисмутазы не выявило значительных отличий.

Показатели свободнорадикального окисления на фоне экспериментального нефролитиаза обнаружили существенную активацию, что проявилось увеличением оксидантной активности крови на

Показатели активности оксидантной и антиоксидантной систем гомогената почки крыс при экспериментальном оксалатном нефролитиазе ($\bar{X} \pm m$)

Показатель	Контрольная группа	Подопытная группа
Тиобарбитуратреактивные продукты, мкМ	7,3±0,40	12,9±0,3*
Общая оксидантная активность, %	54,3±2,36	66,8±1,67*
Каталаза, %	13,2±0,66	15,5±1,06
Супероксиддисмутаза, %	19,6±1,85	18,4±1,90
Глутатионпероксидаза, %	45,2±1,89	30,1±1,85*
Общая антиоксидантная активность, %	20,9±2,69	18,2±1,73

* $p < 0,05$ в сравнении с показателями животных контрольной группы.

Таблица 1 размер кальциевых депозитов составил $2,8 \pm 0,15$ мкм. Характерна выраженная инкрустация эпителия дистальных канальцев и собирательных трубок (рис. 4).

Крупные микролиты, обтурирующие просвет собирательных трубок, обнаруживались в 40% случаев. Лимфогистиоцитарная инфильтрация почечного интерстиция носила выраженный характер. При этом функциональная активность клеток эпителия собирательных трубок была снижена лишь в области основания и частично средней трети сосочка с сохранением активности в области вершины.

Показатели активности оксидантной и антиоксидантной систем крови крыс с экспериментальным оксалатным нефролитиазом ($\bar{X} \pm m$)

Показатель	Контрольная группа	Подопытная группа
Тиобарбитуратреактивные продукты, мкМ	2,6±0,26	3,9±0,42*
Общая оксидантная активность, %	51,6±3,69	73,4±0,92*
Каталаза, %	15,6±0,69	22,0±1,99*
Супероксиддисмутаза, %	24,8±2,53	16,4±1,99*
Глутатионпероксидаза, %	57,8±2,04	32,3±3,29*
Общая антиоксидантная активность, %	67,9±0,90	60,1±1,17*

* $p < 0,05$ в сравнении с показателями животных контрольной группы.

Таблица 2

ОБСУЖДЕНИЕ

Модель этиленгликолевого оксалатного нефролитиаза наиболее адекватно воспроизводит мочекаменную болезнь в эксперименте, что подтверждают наши исследования и данные литературы [6]. Этиленгликоль быстро всасывается и метаболизируется в печени до гликолевой кислоты, которая окисляется до глиоксальной кислоты, с образованием щавелевой кислоты, ее соли, выделяясь почками, обуславливают гипероксалурию, что создает необходимые условия для образования кальций-позитивных структур.

Установлено, что на начальных стадиях нефролитиаза кристаллы кальция фиксируются на апикальных поверхностях нефроцитов, затем транспортируются в интерстиций, скапливаясь в области почечного сосочка, где в дальнейшем и происходит камнеобразование [7, 8].

Наши эксперименты показали, что в физиологических условиях в крови и почках соотношение оксидантной и антиоксидантной систем заметно не отличается. При этом в нефроцитах преобладает уровень оксидантной активности, в крови – антиоксидантной. Возможно, активность процессов свободнорадикального окисления в тканях почек превышает таковую в крови за счет высокого уровня метаболизма и прооксидантов, выводимых с мочой. Антиоксидантная активность почек в норме была существенно ниже, что, скорее всего, обусловлено меньшей концентрацией глутатионпероксидазы, главного антиоксидантного фермента почек. Активность КАТ и СОД в почках и крови существенно не различалась.

В условиях применения этиленгликоля, наряду с отложением композитов оксалата кальция, мы фиксировали активацию свободнорадикального окисления. При этом увеличивалось образование

20%. В почках описываемый показатель возрастал на 10% по сравнению с контрольной группой.

Общая антиоксидантная активность тканей почки существенно не менялась, хотя наблюдалось уменьшение активности глутатионпероксидазы на 30% при незначительных колебаниях показателей каталазы и супероксиддисмутаза. В то же время, в крови животных подопытной группы активность сукцинатдегидрогеназы уменьшилась на 33%, глутатионпероксидазы – на 44%, что, по-видимому, и обеспечило снижение показателя общей антиоксидантной активности эритроцитов. Наряду с этим, при экспериментальном нефролитиазе в крови активность каталазы несколько возросла.

В условиях продолжающегося воздействия этиленгликоля до 6 нед в почках выявлялись более выраженные токсические изменения с поражением коркового и мозгового вещества. В эпителии канальцев и собирательных трубок определялись выраженные изменения преимущественно по типу гидроретической дистрофии, часто со слущиванием эпителия. Наблюдались расширения просвета канальцев нефрона и собирательных трубок.

Мелкие нефролиты определялись в больших количествах (до 67 в поле зрения). Они располагались на всем протяжении почечного сосочка и, реже, в канальцах коркового вещества. Средний

активных форм кислорода и в тканях почек, и в крови животных. Это обусловило нарастание как тиобарбитуратреактивных продуктов, особенно в гомогенате почки (увеличение в 1,75), так и общей оксидантной активности крови (рост на 40%). Гипероксалурия, моделируемая в эксперименте, по мнению ряда исследователей, является необходимым условием для камнеобразования. Образующиеся кристаллы оксалата активно взаимодействуют с почечным эпителием, являясь индуктором свободнорадикального окисления, и обуславливают возникновение окислительного стресса [9, 10]. Активные формы кислорода повреждают мембраны нефроцитов, инициируя дистрофические изменения и клеточную реакцию. Поврежденный эпителий, являясь идеальной площадкой для прикрепления кристаллов оксалата кальция, подвергается дальнейшим дистрофическим изменениям, что усугубляет течение процесса, сопровождающееся ростом нефролитов. В свою очередь, при накоплении в цитоплазме кальция включается кальций-зависимый механизм повреждения клетки, что, в конечном итоге, усиливает окислительное повреждение и вызывает дистрофические изменения [11].

Анализируя уровень антиоксидантной защиты, отметим, что основным эффектом, зафиксированным нами, явилось существенное снижение активности глутатионпероксидазы в крови и почках животных подопытной группы, что подтверждается данными других исследователей [12–14]. Как известно, глутатионпероксидаза является важным антиоксидантным ферментом. Вероятно, ее снижение связано с изменением редокс-баланса глутатиона (GSH), возникающим при нефролитиазе.

Проведенный эксперимент показал определенную взаимозависимость между характером распределения кальциевых депозитов и степенью дистрофических изменений эпителия собирательных трубок.

На 3-й неделе эксперимента максимальное количество микролитов обнаруживалось в областях почечного сосочка, где преобладали изменения эпителия собирательных трубок по типу гидропической дистрофии. Функциональная активность этих эпителиоцитов была закономерно снижена.

Продолжающееся субхроническое воздействие этиленгликоля (до 6 нед) привело к более выраженной патогистологической перестройке тканей почки. В этих условиях на большей части почечного сосочка в эпителиоцитах собирательных трубок отмечались признаки гидропической дистрофии. Здесь, по-видимому, наблюдались признаки компенсаторной активации, клетки становились функционально активными. Важно подчеркнуть, что морфологические изменения клеток, интерпре-

тируемые как дистрофические, могут отражать как повреждение структур и нарушение функций клеток, так и интенсивную функцию клетки, ее повышенную метаболическую активность. Обращает на себя внимание, что микролиты располагались по всей площади почечного сосочка, включая и верхушку. Наличие крупных микролитов сопровождалось обтурацией просвета собирательных трубок, выраженной инкрустацией эпителия собирательных трубок, так что сопутствующая патогистологическая перестройка тканей почки была максимально выражена. Описанные изменения, свидетельствующие о прогрессировании нефролитиаза и изменении функционального состояния нефроцитов, ожидаемо усиливали оксидативный стресс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при моделировании мочекаменной болезни нами отмечена прямая связь между активацией свободнорадикального окисления и развитием оксалатного нефролитиаза.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ramello A, Vitale C, Marangella M. Epidemiology of nephrolithiasis. *J Nephrol* 2000; 13 (3): 45-50
2. Khan SR. Experimental calcium oxalate nephrolithiasis and the formation of human urinary stones. *Scanning Microsc* 1995; 9 (1): 89-100
3. Khan SR. Role of renal epithelial cells in the initiation of calcium oxalate stones. *Nephron Exp Nephrol* 2004; 98 (2): 55-60
4. Sheehan DC, Hrapchak BR. *Theory and practice of histotechnology*. CV Mosby. St. Louis, 1980; 227
5. Яцковский АН. Метод оценки функциональной активности клеточных ядер. *Архив анатомии, гистологии и эмбриологии* 1987; 1: 76-79
6. de Water R, Boeve ER, van Miert PP et al. Experimental nephrolithiasis in rats: the effect of ethylene glycol and vitamin D3 on the induction of renal calcium oxalate crystals. *Scanning Microsc* 1996; 10 (2): 591-601
7. 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
8. 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
9. Khan SR. Hyperoxaluria-induced oxidative stress and antioxidants for renal protection. *Urol Res* 2005; 33 (5): 349-357
10. 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
11. Саркисов ДС, Пальцев МА, Хитров НК. *Общая патология человека*. Медицина, М., 1997; 256-263
12. Thamilselvan S, Hackett RL, Khan SR. Cells of proximal and distal tubular origin respond differently to challenges of oxalate and calciumoxalate crystals. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10 (14): 452-456
13. Tungsanga K, Sriboonlue P, Futrakul P et al. Renal tubular cell damage, and oxidative stress in renal stone patients and the effect of potassium citrate treatment. *Urol Res* 2005; 33 (1): 65-69
14. Selvan R. Calcium oxalate stone disease: role of lipid peroxidation and antioxidants. *Urol Res* 2002; 30 (1): 35-47

Поступила в редакцию 18.11.2009 г.

Принята в печать 02.03.2010 г.

© И.В.Смирнов, В.М.Брюханов, А.А.Бондарев, Я.Ф.Зверев, П.С.Постников, В.Д.Филимонов, 2010
УДК 615.254+615.777.12]-092

*И.В. Смирнов¹, В.М. Брюханов¹, А.А. Бондарев¹, Я.Ф. Зверев¹,
П.С. Постников², В.Д. Филимонов²*

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДИУРЕТИЧЕСКОЙ И САЛУРЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФУРОСЕМИДА И ЙОД-ФУРОСЕМИДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРЫСАХ

*I.V. Smirnov, V.M. Brukhanov, A.A. Bondarev, Ya.F. Zverev, P.S. Postnikov,
V.D. Filimonov*

COMPARATIVE STUDY OF DIURETIC AND SALURETIC ACTIVITY OF FUROSEMIDE AND IODINE-FUROSEMIDE IN EXPERIMENTS ON RATS

¹ Кафедра фармакологии Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул, Россия; ² кафедра органической химии и технологии органического синтеза Томского политехнического университета, г. Томск, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Сравнение диуретической и салуретической активности фуросемида и впервые полученного иодпроизводного фуросемида у крыс. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** В экспериментах на крысах сравнивали эффективность однократного подкожного введения фуросемида и йод-фуросемида в эквимольных дозах 15 мкмоль/кг. Мочу собирали за сутки, определяя величину диуреза, экскрецию натрия, калия и хлора. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Введение фуросемида увеличивало суточный диурез в 3,2 раза, введение йод-фуросемида – в 5,7 раза по сравнению с контролем. Экскреция натрия повысилась в 6,1 и в 11,7 раза, калия – в 1,9 и в 3,3 раза соответственно. При этом соотношение экскретируемых ионов при действии сравниваемых соединений было сопоставимым. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Созданное на основе широко известного диуретического препарата фуросемида новое вещество 4-хлоро-2-((5-йодофуран)метиламино)-5-сульфамилбензойная кислота (йод-фуросемид) в экспериментах на крысах проявило более высокую диуретическую и салуретическую активность на фоне сопоставимого соотношения экскретируемых ионов. Это позволяет предположить, что оба соединения взаимодействуют с одним и тем же типом белков-мишеней в почечных канальцах, проявляя идентичный механизм диуретического действия, который отличается лишь количественно.

Ключевые слова: фуросемид, йод-фуросемид, сравнительная активность.

ABSTRACT

THE AIM. Comparison of diuretic and saluretic activity furosemide and first received iododerivate furosemide in rats. **MATERIAL AND METHODS.** In experiments on rats comparing the effectiveness of one time subcutaneous injection of furosemide and iodine- furosemide in equimolar doses of 15 micromol / kg. Urine was collected during the day, determining the amount of urine output, excretion of sodium, potassium and chloride. **RESULTS.** Introduction of furosemide increased the daily output of 3.2 times, introduction of iodine-furosemide in 5.7 times in comparison with control. Excretion of sodium increase in 6.1 and 11.7 times, potassium - in 1.9 and 3.3 times respectively. With that the ratio of ions excreted by the action of the compared groups was comparable. **CONCLUSION.** Founded on the basis of well-known diuretic drug furosemide new substance, 4-chloro-2-((5-iodofuran) methylamino)-5-sulfamilbenzoynaya acid (iodine-furosemide) in experiments on rats showed higher diuretic and saluretic activity against comparable rations excreted ions. This suggests that both compounds interact with the same type of target proteins in the renal tubules, revealing an identical mechanism of diuretic action, which differs only quantitatively.

Key words: furosemide, iodine-furosemide, the relative activity.

ВВЕДЕНИЕ

Широкое клиническое применение мочегонных средств обуславливает необходимость постоянного поиска новых диуретиков, обладающих большей активностью, селективностью, а также меньшим

количеством побочных эффектов. В нашей лаборатории совместно со специалистами кафедры органической химии и технологии органического синтеза Томского политехнического университета на базе широко известного мощного диуретика фуросемида создан новый препарат йод-фуросемид. Йод-фуросемид представляет собой 4-хлоро-2-((5-йодофуран)метиламино)-5-сульфамилбен-

Смирнов И.В. Алтайский государственный медицинский университет, кафедра фармакологии. 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, д. 40. Тел. (3852) 260829, E-mail: ivan.vl.smirnov@gmail.com

Таблица 1

Сравнительная характеристика диуретической активности фуросемида и йод-фуросемида

Исследуемые вещества	Показатели функции почек					
	Диурез, мл/сут		Экскреция натрия мкмоль/сут		Экскреция калия, мкмоль/сут	
	Контрольное введение изотонического раствора хлорида натрия	Введение вещества	Контрольное введение изотонического раствора хлорида натрия	Введение вещества	Контрольное введение 1 мл физиол. раствора	Введение вещества
Фуросемид	6,3±1,0	20,2±1,5	166±23,1	1015±60,2	449±83,1	848,74±34,0
Йод-фуросемид	4,4±0,6	24,7±1,7	109±27,5	1271±71,4	328±26,4	1081,0±54,2

Примечание. Здесь и в табл. 2 все приведенные показатели достоверно отличаются от контрольных значений.

Таблица 2

Соотношение салуретической и диуретической активности у сравниваемых препаратов

Исследуемые вещества	Экскреция натрия		Экскреция калия	
	Диурез		Диурез	
	Контрольное введение изотонического раствора хлорида натрия	Введение вещества	Контрольное введение изотонического раствора хлорида натрия	Введение вещества
Фуросемид	33,9±7,7	52,1±3,6	82,8±16,1	43,6±2,2
Йод-фуросемид	26,3±6,1	55,0±5,3	91,7±13,0	45,9±3,2

ными после подкожного введения 1 мл физиологического раствора. Ионы натрия и калия определяли методом пламенной фотометрии на фотометре ПАЖ-3. Исследования на животных проводили в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных

животных (приказ МЗ СССР №75 от 12.08.1987 г.) и Федеральным законом РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997 г. Статистическую обработку производили методом вариационных рядов с использованием критериев Стьюдента. Анализ данных выполнен с использованием программы Biostat для Windows.

зойную кислоту, в молекуле которой произведено замещение атома водорода во втором положении фуранового цикла йодом. Атом йода имеет больший размер, способный увеличить площадь гидрофобного сегмента фуранового цикла, что может увеличить прочность комплекса и повысить активность нового соединения.

По нашим предположениям, вновь созданное диуретическое средство должно иметь более широкое поле применения без потери диуретического и натрийуретического действия.

Целью настоящего исследования явилось сравнение диуретической и салуретической активности фуросемида и его производного йод-фуросемида в экспериментах на крысах

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено в осенний период на крысах-самцах Wistar массой 220–250 г, которых содержали на стандартной диете при свободном доступе к воде в естественном световом режиме. Животные находились в индивидуальных клетках, приспособленных для сбора мочи. Подопытные крысы были разделены на две группы. После определения контрольных показателей функции почек всем животным I группы (n=12) однократно было введено подкожно 15 мкмоль/кг фуросемида в 1 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Крысам II группы (n=12) – эквивалентная доза 15 мкмоль/кг йод-фуросемида. Собирали мочу за сутки, определяя величину диуреза, экскрецию с мочой ионов натрия, калия и хлора. Сравнивали показатели у животных обеих групп, а также с цифрами, получен-

ными после подкожного введения 1 мл физиологического раствора. Ионы натрия и калия определяли методом пламенной фотометрии на фотометре ПАЖ-3. Исследования на животных проводили в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные результаты представлены в табл. 1 и 2.

Как видно из табл. 1, введение фуросемида увеличивало суточный диурез в 3,2 раза, введение йод-фуросемида – в 5,7 раза по сравнению с контролем. Экскреция ионов натрия под влиянием фуросемида повысилась в 6,1 раза, под влиянием йод-фуросемида – в 11,7 раза по сравнению с контролем. Экскреция ионов калия увеличилась в 1,9 раза по сравнению с контролем под влиянием фуросемида и в 3,3 раза под влиянием йод-фуросемида.

Таким образом, в экспериментах на крысах однократное подкожное применение эквивалентной дозы йод-фуросемида обусловило развитие более выраженного диуретического и салуретического эффекта.

Как видно из табл. 2, соотношение экскреции ионов и выделения воды из организма у сравниваемых веществ не имело существенных отличий при применении фуросемида и йод-фуросемида, что свидетельствует об однонаправленном влиянии веществ на транспорт ионов натрия, калия и хлоридов. Это позволяет предположить, что введение

атома йода в молекулу фуросемида не повлияло на селективность вновь полученного соединения.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что активность лекарственного вещества, действующего по принципу межмолекулярного взаимодействия с белком-мишенью, зависит от прочности образуемого им комплекса лекарственного вещества – биологическая мишень. Эту прочность в водной среде могут обеспечивать два основных механизма: 1) полярная функциональная группа, способная в водной среде к образованию водородной связи с полярными группами белка-мишени, замещая молекулы воды в сольватационной оболочке, что приводит к вытеснению молекул воды из взаимодействия с функциональной группой белка. Такое взаимодействие усиливает прочность комплекса только в том случае, если белковая функциональная группа образует более прочную водородную связь с молекулой лекарственного вещества, чем с молекулой воды; 2) гидрофобный эффект от взаимодействия гидрофобных фрагментов молекулы препарата и белка-мишени. Это взаимодействие подчиняется ряду известных закономерностей. Чем больше площадь взаимодействия гидрофобных сегментов препарата и белка, тем прочнее образующийся между ними комплекс. Чем выше константа прочности образовавшегося комплекса, тем прочнее связь и соответственно сильнее и длительнее эффект [4, 5]. Ранее проведенные нами исследования показали, что в молекуле фуросемида ключевую роль в обеспечении прочности комплекса играет карбоксильная группа. Сульфаниламидная группа и аминогруппа более прочные комплексы образуют с молекулой воды и, следовательно, не могут увеличивать активность молекулы. Очевидно, роль последних заключается в обеспечении относительно высокой растворимости вещества в воде [6].

Проведенное нами сравнительное исследование показало, что новое производное сульфанилбензойной кислоты йод-фуросемид обладает более выраженным диуретическим и салуретическим действием в сравнении с фуросемидом у крыс. Поскольку атом йода является гидрофобным и не может взаимодействовать с полярными функциональными группами катион-хлорных транспортеров в почечных канальцах, его роль в повышении активности препарата, вероятно, заключается в увеличении площади гидрофобного сегмента молекулы. Это, в свою очередь, позволяет молекулам образовывать более прочные комплексы и либо в меньшей концентрации блокировать то же число катион-хлорных транспортеров, либо в той

же эквимольной дозе блокировать большее число транспортеров, чем молекулы фуросемида. Наряду с этим, практически идентичные соотношения салуретического и диуретического эффектов исследуемых веществ позволяют с большой долей вероятности предположить, что оба диуретика взаимодействуют с одним и тем же типом белков-мишеней в почечных канальцах, проявляя идентичный механизм диуретического действия, который отличается лишь количественно. Этому не следует удивляться, имея в виду, что более активные петлевые диуретики буметанид и пиретанид, также блокирующие катион-хлорные транспортеры, имеют в своем электронном строении большую, чем у фуросемида, площадь гидрофобного сегмента при аналогичном наборе полярных функциональных групп и сходной пространственной геометрии молекулы [7].

Таким образом, более выраженное по сравнению с фуросемидом диуретическое и салуретическое действие йод-фуросемида указывает на то, что при поиске новых мочегонных средств с большей активностью, наряду с включением высокоактивных полярных групп для повышения прочности комплекса лекарство–мишень, целесообразно учитывать наличие гидрофобного эффекта. При этом не исключено, что введение в молекулу комплементарной полярной группы может увеличить активность модифицируемого соединения в десятки раз. А модификация гидрофобного сегмента за счет значительно более низкой энергетики взаимодействия позволяет более плавно повышать активность вещества, что может иметь практическое значение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Созданное на основе широко известного диуретического препарата фуросемида новое вещество йод-фуросемид в экспериментах на крысах проявило более высокую диуретическую и салуретическую активность на фоне сопоставимого соотношения экскретируемых ионов. Это позволяет предположить, что оба соединения взаимодействуют с одним и тем же типом белков-мишеней в почечных канальцах, проявляя идентичный механизм диуретического действия, который отличается лишь количественно.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Брюханов ВМ, Зверев ЯФ. *Побочные эффекты современных диуретиков: Метаболические и токсико-аллергические аспекты*. ЦЭРИС, Новосибирск, 2003; 3–44
2. Глезер ГА. Побочные действия и осложнения при лечении мочегонными препаратами: Сообщение 1. *Тер арх* 1992; (10): 120–123

3. Зверев ЯФ, Брюханов ВМ. *Фармакология и клиническое использование экстрауренального действия диуретиков*. Медицинская книга, М., 2000; 10–22

4. Бондарев АА, Смирнов ИВ. Оценка энергии взаимодействия некоторых функциональных групп лекарственных веществ с белковыми молекулами в водной среде. *Известия ТПУ* 2006; 309 (4): 101–104

5. Брюханов ВМ, Смирнов ИВ, Бондарев АА и др. Экспериментальное и теоретическое изучение механизма диуретической активности фуросемида. *Психофармакология и биологическая наркология* 2007; (7): 1876

6. Смирнов ИВ, Брюханов ВМ, Бондарев АА и др. О роли карбоксильной группы в молекуле фуросемида. *Психофармакология и биологическая наркология* 2007; (7): 1953

7. Бондарев АА, Смирнов ИВ. Спектры взаимодействия лекарственного вещества с белковым субстратом в водной среде. *Науки о человеке. VIII конгресс молодых ученых и специалистов*, Томск, 2007; 218

Поступила в редакцию 11.11.2009 г.

Принята в печать 02.03.2010 г.

© В.М.Брюханов, И.В.Смирнов, А.А.Бондарев, Я.Ф.Зверев, 2010
УДК 616-003.261:665.122.6]-08.254-092

В.М. Брюханов¹, И.В. Смирнов¹, А.А. Бондарев², Я.Ф. Зверев¹

ПОДКИСЛЕНИЕ МОЧИ КАК ФАКТОР, ПОВЫШАЮЩИЙ ДИУРЕТИЧЕСКУЮ И САЛУРЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ФУРОСЕМИДА У КРЫС

V.M. Brykhanov, I.V. Smirnov, A.A. Bondarev, Ya.F. Zverev

ACIDIFYING OF URINE AS A FACTOR WHICH INCREASES DIURETIC AND SALURETIC FUROSEMIDE ACTIVITY IN RATS

Кафедры фармакологии¹ и общей химии² Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Изучение диуретической и салуретической активности фуросемида у крыс при подкислении мочи с помощью аскорбиновой кислоты. **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Исследования проведено на крысах Wistar. Контрольной группе крыс, находившейся в условиях обычного питьевого режима, ежедневно на протяжении 7 дней внутривенно вводили 3 мл водопроводной воды, подопытным животным – такой же объем 5% раствора аскорбиновой кислоты. После определения pH мочи подкожно вводили фуросемид в дозе 2 мг/кг. Определяли суточный диурез, а также экскрецию ионов натрия и калия. Квантово-химические расчеты выполнялись методом DFT B3LYP/6-311G* с использованием программы GAMESS. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Исследование показало, что в контрольной группе животных pH мочи составил 7,2, а в группе, получавшей аскорбиновую кислоту, – 6,0. В этих условиях диуретическая и салуретическая активность фуросемида существенно различалась. Введение фуросемида в контрольной группе крыс вызвало увеличение суточного диуреза в 3,2 раза, экскреции натрия – в 6 раз, экскреции калия – в 1,9 раза. Введение диуретика на фоне предварительного применения аскорбиновой кислоты индуцировало значительно большие изменения: увеличение суточного диуреза – в 5,6 раза, выделения натрия с мочой – более, чем в 11 раз, а калия – в 3,3 раза. Квантово-химический анализ показал, что эти различия обусловлены увеличением молекулярной и уменьшением ионной форм диуретика в просвете почечных канальцев при подкислении мочи. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** В экспериментах на крысах показано повышение диуретической и салуретической активности фуросемида в условиях сдвига pH первичной мочи в кислую сторону. Полученные результаты открывают возможность для варьирования терапевтической дозы препарата и регулирования некоторых его побочных эффектов. Кроме того, открываются определенные перспективы для модификации молекулы фуросемида с целью изменения изоэлектрической точки препарата, что, в свою очередь, должно привести к увеличению его диуретической активности.

Ключевые слова: активность фуросемида, аскорбиновая кислота, подкисление мочи.

ABSTRACT

THE AIM of the research is to study saluretic and diuretic activity of furosemide in rats with the acidification of urine with ascorbic acid. **MATERIALS AND METHODS.** Studies conducted on Wistar rats, Control group of rats, which was in conditions of normal drinking water treatment, daily for about 7 days-long intragastrically injected with 3 ml of tap water; the same amount of 5% aqueous solution of ascorbic acid. After determining the pH of urine were injected subcutaneously with furosemide at a dose of 2 mg / kg. We determined the daily urine output and excretion of sodium and potassium. Quantum-chemical calculations were performed using DFT B3LYP/6-311G * using the program GAMESS. **RESULTS.** The study showed that in the control group of animals urine pH was 7.2, while in the group receiving ascorbic acid – 6.0. In these conditions, and the diuretic furosemide saluretic activity varied significantly. Introduction of furosemide control group of rats caused an increase in daily urine output of 3.2 times, the excretion of sodium – in 6 times, the excretion of potassium – in 1.9 times. Introduction diuretic on the background of the prior application of ascorbic acid induced significantly greater changes: an increase in daily urine output of 5.6 times, and urinary sodium excretion of more than 11 times, and potassium – in 3.3 times. Quantum-chemical analysis showed that these differences are attributable to the increase of molecular and ionic forms of diuretic decrease in the lumen of renal tubules in acidification of urine. **CONCLUSION.** In experiments on rats showed increased diuretic and saluretic activity of furosemide in a shift of primary urine pH to the acid side. These results open the possibility for varying the therapeutic dose-tics and regulation of some of its side effects. In addition, offer some prospects for the modification of the molecule of furosemide in order to change the isoelectric point of the drug, which, in turn, should lead to an increase in its diuretic activity.

Key words: activity of furosemide, ascorbic acid, acidification of urine.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение влияния различных лекарственных веществ на фармакодинамику фуросемида является актуальным вследствие частого его применения в комбинации с препаратами других фармакологических групп для лечения гипертонической болезни, сердечной недостаточности, нефротического синдрома, цирроза печени и многих других заболеваний [1]. Ряд имеющихся теоретических предположений позволили нам предположить наличие возможного влияния изменений pH первичной мочи на диуретическую активность фуросемида, что может отразиться на эффективности этого диуретика [2]. Единичные данные, касающиеся этой проблемы, стали появляться в мировой печати [3]. Подтверждению этого предположения и посвящено данное исследование. Целью работы было изучение диуретической и салуретической активности фуросемида у крыс при подкислении мочи аскорбиновой кислотой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены в осенний период на крысах-самцах Wistar массой 220–250 г, которых содержали на стандартной диете и при свободном доступе к воде в естественном световом режиме. Животные находились в индивидуальных клетках, приспособленных для сбора мочи. Первая (контрольная) группа (n=12) в течение 7 дней с помощью зонда получала внутривентриально 3 мл водопроводной воды. Животным второй группы (n=12) в течение того же периода времени вводили внутривентриально 3 мл 5% раствора аскорбиновой кислоты. После определения показателей pH мочи всем животным подкожно вводили фуросемид в дозе 2 мг/кг в 1 мл физиологического раствора. Производили суточный сбор мочи, определяя величину диуреза и экскрецию ионов натрия и калия. Полученные цифры сравнивали с контрольными показателями после подкожного введения 1 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Определение кислотности мочи проводили с помощью иономера И-130.

Ионы натрия и калия определяли методом пламенной фотометрии на фотометре ПАЖ-3. Исследования на животных проводили в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (приказ МЗ СССР №75 от 12.08.1987 г.) и Федеральным законом РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997 г. Результаты обрабатывали методом вариационных рядов с определением критериев Стьюдента. Анализ данных выполнен с использованием программы Biostat для Windows.

Квантово-химические расчеты выполнялись неэмпирическим методом DFT B3LYP/6-311G* с обменным функционалом Беке В3 и корреляционным функционалом Ли, Янга и Пара (LYP). Геометрия молекулы фуросемида была полностью оптимизирована, отсутствие мнимых частот колебаний подтверждало их стационарный характер. Расчет был выполнен с помощью стандартного пакета программ GAMESS (General Atomic and Molecular Electronic Structure System) методом, разработанным группой М. Гордона, содержащим все основные вычислительные алгоритмы, необходимые для теоретического исследования химических систем [4]. В качестве вычислительного ядра для квантово-химических расчетов применялся 30-узловой вычислительный кластер на базе ЭВМ IBM PC на основе ОС ASPLinux 12.0.

Определение области перехода фуросемида в молекулярную форму было проведено с помощью титрования 1% раствора фуросемида 0,01N раствором соляной кислоты.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Эксперименты показали, что величина pH мочи в контрольной группе крыс составила $7,2 \pm 0,2$, в группе, получавшей 7 дней аскорбиновую кислоту, – $6,0 \pm 0,2$. В этих условиях диуретическая и салуретическая активность фуросемида, как это следует из таблицы, существенно различалась.

Из таблицы видно, что подкожное введение

Диуретическая и салуретическая активность фуросемида (2 мг/кг) у крыс на фоне применения аскорбиновой кислоты

Исследуемые группы	Показатели функции почек					
	Диурез, мл/сут		Экскреция ионов натрия, мкмоль/сут		Экскреция ионов калия, мкмоль/сут	
	Введение физ. раствора	Введение фуросемида	Введение физ. раствора	Введение фуросемида	Введение физ. раствора	Введение фуросемида
I группа (контрольная)	5,3±0,8	<u>9,44±1,37*</u>	94,42±25,52	<u>382,1±60,0*</u>	320±42,52	<u>623,62±89,0*</u>
II группа (получавшая аскорбиновую кислоту)	3,67±0,53	<u>17,8±3,9*</u>	17,8±3,95	<u>204±32,5*</u>	189±46,0	<u>662±26,2*</u>

Примечание. Все значения, полученные после введения фуросемида, достоверно отличаются от контрольных. Подчеркнуты достоверные различия между I и II группами ($p < 0,001$).

фуросемида контрольной группе крыс вызвало увеличение суточного диуреза в 1,8 раза. Суточная экскреция натрия увеличилась в 4 раза, экскреция калия – в 1,9 раза. Введение фуросемида на фоне предварительного применения аскорбиновой кислоты индуцировало значительно большее увеличение суточного диуреза, превосходившее исходные показатели в 4,9 раза. Аналогичные различия были зафиксированы и со стороны экскреции электролитов. Так, выделение натрия с мочой возросло более чем в 11 раз, а калия – в 3,5 раза.

Результаты квантово-химических расчетов показали, что из всех функциональных групп, имеющих в структуре фуросемида, образовать водородные связи с белковыми молекулами способны сульфаниламидная и карбоксильная группы. Аминогруппа, как в молекулярной, так и в ионной форме, дезактивирована в результате стерических затруднений, обусловленных наличием фуранового цикла. Атом водорода аминогруппы задействован в образовании прочной внутримолекулярной связи и не может принимать участие в межмолекулярном взаимодействии. Сульфаниламидная группа, выполняя функцию гидрофильного ключевого сегмента, возможно, повышает селективность молекулы, но вряд ли способна увеличивать прочность образуемого комплекса. В ионной форме карбоксильная группа, так же как и сульфаниламидная, выполняет функцию гидрофильного ключевого сегмента, по всей вероятности, увеличивает селективность молекулы, но не способна участвовать в образовании прочного комплекса с полярными группами на белке-мишени. В молекулярной форме карбоксильная группа способна увеличить прочность комплекса на 31 кДж/моль, взаимодействуя с анионными остатками аспарагиновой и глутаминовой кислот белка-мишени. Максимально возможный аффинитет молекулярной формы фуросемида к белкам-мишеням в водной среде составляет ≈ 53 кДж/моль, а константа равновесия $K=8,61 \times 10^8$, ионной – только $K=5,1 \times 10^3$ при температуре 310K (37°C). Таким образом, биологической активностью теоретически в большей мере должна обладать молекулярная форма вещества, чем ионная.

Титрование раствора фуросемида показало, что изоэлектрическая точка фуросемида находится в области значений pH 5,7–5,6. Из этого следует, что в крови фуросемид находится в основном в ионной форме. А в моче, в зависимости от значения ее pH, доля молекулярной формы препарата меняется, и, следовательно, должна меняться и величина его активности.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, на фоне применения аскорбиновой кислоты зафиксирован значительно более выраженный диуретический и салуретический эффект фуросемида. Рост диуретической активности препарата в группе крыс на фоне использования аскорбиновой кислоты, очевидно, связан с увеличением доли молекулярной формы препарата в почечном канальце. Как показали квантово-химические расчеты, молекулярная форма фуросемида имеет больший аффинитет к белку-мишени, чем ионная. Карбоксильный ион глутаминовой или аспарагиновой кислот в молекуле транспортера взаимодействует с карбоксильной группой фуросемида, и таким образом образует прочный комплекс лекарственного вещества с белком. При этом энергетический выигрыш наблюдается только при взаимодействии органических анионов с нейтральными молекулами [5]. По-видимому, при физиологических значениях pH среды в ионной форме находятся глутаминовая и аспарагиновая кислоты белковых транспортеров, а фуросемид выступает в виде нейтральной молекулы. В процессе комплексообразования происходит разрыв сольватационных оболочек белка и фуросемида с замещением молекул воды. В результате образуется прочная водородная связь между водородом карбоксильной группы препарата и кислородом карбоксильной группы глутаминовой или аспарагиновой кислот. Особо следует отметить образование прочных водородных связей в ароматических и сопряженных системах. Ионизированной форме молекулы фуросемида выгоднее образовывать межмолекулярный комплекс с молекулами воды, т.е. пребывать в состоянии специфической сольватации. Два карбоксильных иона в водной среде не могут образовывать прочную водородную связь. Разрыв их сольватационных оболочек энергетически невозможен. При значении pH 6,0 доля молекулярной формы резко повышается, что свидетельствует о ее значимой роли в обеспечении активности препарата.

Проведенное сравнительное исследование активности фуросемида на фоне применения аскорбиновой кислоты не только выявило ряд закономерностей фармакологической активности фуросемида, но и показало перспективу создания комбинированных препаратов этого препарата с веществами, способными подкислять мочу (это особенно важно у людей с щелочными значениями pH мочи) с целью модулирования активности фуросемида.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в экспериментах на крысах показано повышение диуретической и салуретической активности фуросемида в условиях сдвига pH первичной мочи в кислую сторону. Полученные результаты открывают возможность для варьирования терапевтической дозы препарата и регулирования некоторых его побочных эффектов. Кроме того, открываются определенные перспективы для модификации молекулы фуросемида с целью изменения изоэлектрической точки препарата, что, в свою очередь, должно привести к увеличению его диуретической активности.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Зверев ЯФ, Брюханов ВМ. *Фармакология и клиническое использование экстраренального действия диуретиков*. Медицинская книга, М., 2000; 10–22
2. Брюханов ВМ, Смирнов ИВ, Бондарев АА, и др. Экспериментальное и теоретическое изучение механизма диуретической активности фуросемида. *Психофармакология и биологическая наркология* 2007; (7): 1876
3. Lee MG, Chiou WL. Mechanism of ascorbic acid enhancement of the bioavailability and diuretic effect of furosemide. *Drug Metab Dispos* 1998; 26 (5): 401–407
4. Немухин АВ, Григоренко БЛ, Грановский АА. Молекулярное моделирование с программой PS GSMESS: от двухатомных молекул до ферментов. *Вестник Московского университета* 2004; (2): 75–102
5. Бондарев АА, Смирнов ИВ. Оценка энергии взаимодействия некоторых функциональных групп лекарственных веществ с белковыми молекулами в водной среде. *Известия ТПУ* 2006; 309 (4): 101–104

Поступила в редакцию 14.09.2009 г.

Принята в печать 02.03.2010 г.

© Е.С.Завьялова, И.А.Корнеев, О.Д.Ягмуров, А.С.Аль-Шукри, 2010
УДК 616.92-006.6-036.8

Е.С. Завьялова¹, И.А. Корнеев¹, О.Д. Ягмуров², А.С. Аль-Шукри¹

ЗНАЧЕНИЕ КЛАССИЧЕСКИХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ ПЕРЕХОДНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

E.S. Zavialova, I.A. Korneev, O.D. Yagmurov, A.S. Al-Shukri

THE VALUE OF CLASSICAL MORPHOLOGICAL FEATURES TO PREDICT THE COURSE OF TRANSITIONAL CELL CARCINOMA OF THE BLADDER

Кафедры урологии¹ и патологической анатомии² Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: исследование прогностической ценности определения глубины инвазии и степени дифференцировки рака мочевого пузыря согласно рекомендациям ВОЗ редакций 1973 и 2004 гг. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Ретроспективно изучены материалы клинического обследования 115 больных (соотношение мужчин и женщин составило 9:1, средний возраст пациентов – 63±1,9 года), оперированных по поводу переходно-клеточного рака мочевого пузыря (63 (54,8%) – трансуретральная резекция, 14 (12,2%) – радикальная цистэктомия, 38 (33%) – диагностическая трансуретральная (ТУР) биопсия с последующей лучевой терапией. При постхирургическом гистопатологическом исследовании определяли глубину инвазии и степень дифференцировки рака с позиций двух классификационных систем и сопоставляли полученные результаты с послеоперационной выживаемостью больных. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Низкую выживаемость наблюдали у пациентов с расположением карцином в области треугольника Льюто ($rs=0,64$; $p=0,02$), множественными опухолями ($rs=0,62$; $p=0,024$), рецидивирующим течением рака ($rs=0,69$; $p=0,018$). Продолжительность жизни пациентов сокращалась при увеличении глубины прорастания рака мочевого пузыря ($r=0,55$; $p=0,01$), а также с возрастанием степени анаплазии карцином при оценке согласно классификации 1973 г. В соответствии с классификацией ВОЗ 2004 г. выживаемость больных с низкодифференцированным раком была достоверно короче по сравнению с пациентами с высокодифференцированными карциномами ($t=3,35$; $p=0,007$; $U=2,00$; $p=0,017$). **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Исследование показало, что категории двух принятых на сегодняшний день классификационных систем предоставляют разную информацию относительно течения рака мочевого пузыря и целесообразно использовать обе систематизации.

Ключевые слова: переходно-клеточный рак мочевого пузыря, классификация ВОЗ 2004 г., прогноз.

ABSTRACT

THE AIM of the study the prognostic value of determining the depth of invasion and degree of differentiation of bladder cancer according to WHO recommendations editions 1973 and 2004. **PATIENTS AND METHODS.** Retrospectively studied the materials of clinical examination 115 patients (ratio of men to women was 9:1, mean age - 63 ± 1,9 years) operated on for transitional-cell bladder cancer (63 (54,8%) - transurethral resection, 14 (12.2%) radical cystectomy, 38 (33%) diagnostic TUR-biopsy followed by radiotherapy. During postsurgical histopathologic examination determined the depth of invasion and degree of differentiation of cancer from the standpoint of the two classification systems and to compare these results with postoperative survival. **RESULTS.** The low survival rate observed in patients with carcinomas located in the area of the triangle is pouring ($rs = 0,64$; $p = 0,02$), multiple tumors ($rs = 0,62$; $p = 0,0,4$), recurrent course of cancer ($rs = 0,69$; $p = 0,018$). The life expectancy of patients declined with increasing depth of germination of bladder cancer ($r = 0,55$; $p = 0,01$), as well as with increasing degree of anaplasia of carcinomas in the evaluation according to the classification in 1973 According to the WHO classification in 2004 the survival rate of patients with poorly differentiated cancer was significantly shorter compared with patients with highly differentiated carcinomas ($t = 3.35$; $p = 0.007$; $U = 2.00$; $p = 0.017$). **CONCLUSION.** The study showed that the two categories taken to date classification systems provide a variety of information regarding the flow of bladder cancer and should be used both systematization.

Key words: transitional cell bladder cancer, the WHO classification of 2004., Prognosis.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время выбор методов лечения и определение прогноза дальнейшего течения заболевания базируются на традиционных прогности-

ческих факторах – глубине инвазии и степени дифференцировки переходно-клеточного рака. Общепринятой схемой стадирования опухолей уротелия является система TNM (1983 г.), основанная на клинко-морфологических данных [1]. Гистологическая градация карцином мочевого пузыря явля-

Завьялова Е.С. 197089, ул. Льва Толстого, д.17, тел. 8921-759-24-04, e-mail: dr.zavialova@mail.ru

ется предметом дискуссии среди урологов уже много лет. В 1973 г. была принята трехстепенная классификация G. Mostofi [2]. Опыт ее применения показал, что воспроизводимость результатов как при повторной оценке одним исследователем, так и между разными гистологами, может существенно варьировать. В связи с этим основной целью принятия новой редакции гистологической классификации было создание легко воспроизводимой системы с четко определенными гистологическими критериями для каждой классификационной категории. Принятая в 2004 г. классификация ВОЗ/ЕОИЛР базируется на 8 характеристиках опухолевой ткани и предлагает собственно карциномы мочевого пузыря оценивать по двум степеням дифференцировки [3].

Однако преимущества настоящей классификации оспариваются многими учеными. Не все исследователи подтвердили лучшую воспроизводимость результатов новой градации, другие – оспаривают целесообразность введения новой категории папиллярных опухолей – папиллярные новообразования с низким злокачественным потенциалом [4]. Кроме того, среди урологов нет единого мнения о том, как соотносятся между собой категории двух классификаций. И наконец, неясным остается вопрос о том, позволяет ли новая редакция гистологической классификации уточнить принадлежность больных к той или иной группе риска рецидивирования и прогрессирования переходно-клеточного рака. Поэтому в настоящий момент ВОЗ рекомендованы к применению обе классификации [5].

Целью настоящего исследования явилось исследование прогностических возможностей определения глубины инвазии и степени дифференцировки рака мочевого пузыря, а также сравнение прогностической ценности двух принятых гистологических классификаций.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В основу работы положены материалы ретроспективного обследования 115 больных переходно-клеточным раком мочевого пузыря, оперированных в урологической клинике ГОУ ВПО Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова с 1995 по 2007 г. В анализируемой группе пациентов было 103 мужчины и 12 женщин (соотношение мужчин и женщин составило 9:1). Средний возраст пациентов варьировал от 36 до 84 лет и в среднем составил $63 \pm 1,9$ года.

У 92 (80%) больных опухоль мочевого пузыря была диагностирована впервые, у 23 (20%) пациентов наблюдался рецидив после трансуретраль-

ной резекции мочевого пузыря. По результатам обследования пациентов было выявлено, что размеры новообразований колебались от 1 до 8 см и в среднем составляли $2,9 \pm 1,8$ см. В 58 (50,4%) случаях карциномы были одиночными, другие 57 (49,6%) – множественными. В ходе цистоскопии было установлено, что опухоли чаще всего располагались на боковых стенках в области устьев мочеточников: на левой стенке новообразования были расположены в 54 (47%) случаях, с такой же частотой 47% они выявлялись и на правой стенке. В области треугольника Льюто опухоли были диагностированы у 46 (40%) человек, на задней стенке мочевого пузыря – у 45 (39,1%) и на передней стенке – у 24 (20,9%) больных.

63 (54,8%) пациентам была произведена трансуретральная резекция поверхностных опухолей мочевого пузыря, из них 8 (10,1%) больным ТУР были выполнены в связи с рецидивными карциномами. 14 (12,2%) больным с инвазивным раком была проведена радикальная цистэктомия. У 38 (33%) больных диагноз был подтвержден при диагностической ТУР-биопсии, однако, ввиду значительного местного распространения опухоли, выполнение радикального хирургического лечения им не представлялось возможным. Этим пациентам проводилась лучевая терапия.

С целью уточнения глубины инвазии и степени дифференцировки рака мочевого пузыря было проведено постхирургическое гистологическое исследование. В исследованных образцах глубина инвазии карцином мочевого пузыря pTis определялась у 3 (2,6%) человек, pTa – у 24 (20,9%), pT1 – у 14 (12,2%), pTX – у 21 (18,3%), pT2 – у 31 (27%), pT3 – у 11 (9,6%) и pT4 – у 11 (9,6%) человек. 21 пациенту после ТУР мочевого пузыря с клиническими признаками поверхностных новообразований не удалось определить распространение опухолей в слизистой оболочке в связи с некротическими изменениями образцов. Отсутствие опухоли в подлежащей стенке мочевого пузыря свидетельствовало об их принадлежности к поверхностным карциномам.

Степень дифференцировки образцов переходно-клеточного рака мочевого пузыря оценивали с позиции двух рекомендованных ВОЗ классификационных систем. В соответствии с классификацией Mostofi 1973 г. высокая степень дифференцировки рака мочевого пузыря была выявлена в 58 (50%) случаях, умеренная степень дифференцировки – в 26 (23%) случаях, низкодифференцированные опухоли определялись у 31 (27%) человека.

Также на группе больных из 16 человек нами было проведено исследование принадлежности к

Результаты сопоставления гистологической классификации 1973 г. с классификацией 2004 г.

Степень дифференцировки опухоли	Папиллярное образование с низким злокачественным потенциалом	Высокодифференцированная карцинома	Низкодифференцированная карцинома
G1	1 (6%)	2 (13%)	3 (19%)
G2	0	1 (6%)	5 (31%)
G3	0	1 (6%)	3 (19%)

принятой в 2004 г. классификации ВОЗ/ЕОИЛР. Гистологические препараты были отобраны по принципу «чистой группы», в них отсутствовали некротические, воспалительные и другие изменения, которые могли бы повлиять на трактовку результатов исследования. Среди этих больных у 1 (6%) было диагностировано папиллярное образование с низким злокачественным потенциалом, у 4 (25%) – высокодифференцированная карцинома мочевого пузыря и у 11 (69%) – низкодифференцированная карцинома мочевого пузыря.

Результаты сопоставления гистологической классификации 1973 г. с классификацией 2004 г. представлены в таблице.

После оперативного лечения все больные с поверхностным раком мочевого пузыря были взяты на диспансерный учет. За время наблюдения умерли 52 (43,3%) человека. Смерть этих больных наступила на фоне прогрессирования и рецидивирования рака мочевого пузыря. Однолетняя, трехлетняя и пятилетняя выживаемость больных составила 92,8, 76,5 и 66,3% соответственно. Рецидивы в период наблюдения наступили у 73,1% больных.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Нам удалось выявить некоторые закономерности между клиническими и морфологическими проявлениями опухолевого процесса. Было установлено, что для пожилых больных была более характерна умеренная ($t=3,63$; $p=0,003$) и низкая ($t=4,75$; $p=0,001$) степень дифференцировки карцином мочевого пузыря. Низкую выживаемость наблюдали у пациентов, которые, несмотря на наличие гематурии и дизурии, длительное время не обращались за медицинской помощью ($p=0,012$). Сравнение размеров опухолей в зависимости от глубины инвазии карцином у обследованных нами больных показало, что больший размер новообразований был характерен для инвазивных опухолей ($t=2,85$; $p=0,015$; $U=6,00$; $p=0,028$). Также нам удалось подтвердить положение о высоком риске прогрессирования расположенных в области треугольника Льео карцином – выживаемость этих больных через пять лет была достоверно ($rs=0,64$; $p=0,02$) ниже, чем выживаемость пациентов с опухолями мочевого пузыря другой локализации. Кро-

ме того, оказались статистически достоверными различия в выживаемости больных с одиночными новообразованиями и мультилокулярным поражением мочевого пузыря опухолями ($rs=0,62$; $p=0,024$), а отсутствию рецидивов при контрольном исследовании после оперативного лечения ($rs=0,69$;

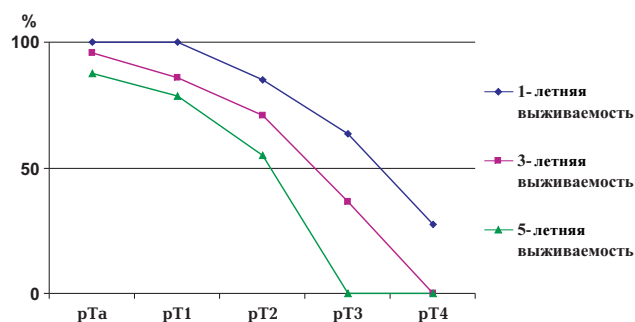


Рис. 1. 1-, 3- и 5-летняя выживаемость больных переходноклеточным раком в зависимости от степени глубины инвазии рака мочевого пузыря.

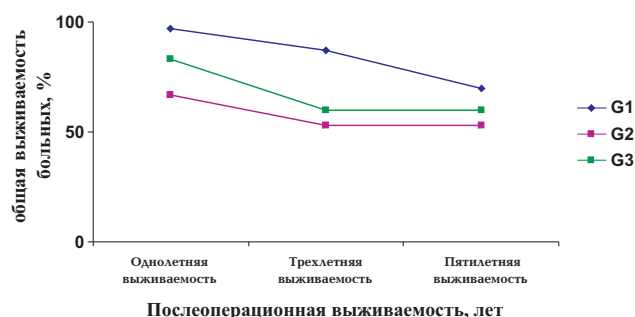


Рис. 2. 1-, 3- и 5-летняя выживаемость больных переходноклеточным раком в зависимости от степени дифференцировки рака мочевого пузыря.

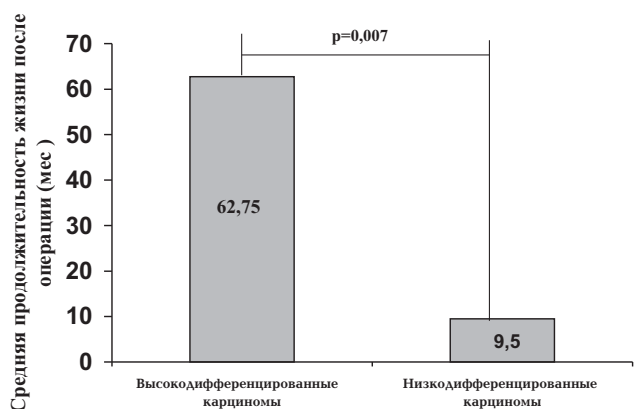


Рис. 3. Средняя продолжительность жизни после операции больных высокодифференцированным и низкодифференцированным раком мочевого пузыря в соответствии с редакцией 2004 г.

$p=0,018$) соответствовали лучшие показатели выживаемости больных.

Мы проанализировали возможности прогнозирования течения переходно-клеточного рака с помощью определения глубины инвазии и степени дифференцировки опухолей мочевого пузыря на нашей группе больных.

Рецидивирующее течение наблюдалось в 42,9% случаев у больных с глубиной инвазии опухоли pTa, в 61,8% случаев – у пациентов с опухолями стадии pT1, карциномы in situ в нашем исследовании не рецидивировали. У переходно-клеточных опухолей с глубиной прорастания pT4 рецидивы не наблюдались. Низкий процент рецидивирования инвазивных раков связан со значительной долей пациентов, которым не выполнялась радикальная цистэктомия и проводимой им лучевой терапией. Срок рецидивирования карцином pTa составил в среднем 13 мес, карцином in situ – 7 мес, для опухолей стадии pT1 она была 7 мес, стадии pT2 – 13 мес, стадии pT3 – 1,5 мес, стадии pT4 – 7 мес.

Данные об однолетней, трехлетней и пятилетней выживаемости представлены на рис.1, из которого следует, что с увеличением глубины инвазии выживаемость больных снижалась. Нами статистически подтверждена зависимость низкой продолжительности жизни пациентов от глубины прорастания рака мочевого пузыря ($r=0,55$; $p=0,01$). При анализе различий в выживаемости больных с поверхностными и инвазивными переходно-клеточными раком было обнаружено, что у пациентов с поверхностными карциномами мочевого пузыря продолжительность жизни после операции была выше, чем у больных с инвазивными опухолями ($t=2,87$; $p=0,01$).

Согласно классификации ВОЗ 1973 г., опухоли со степенью дифференцировки G1 рецидивировали в 57,1% случаев, умереннодифференцированные карциномы оказались рецидивирующими в 83,3% и 100% рецидивов имели низкодифференцированные раки. Среднее время рецидивирования низкодифференцированных карцином составило 9 мес, умереннодифференцированные опухоли рецидивировали в среднем через 6 мес, а низкодифференцированные – через 8,3 мес.

С позиций классификации ВОЗ/ЕОИЛР 2004 г. в случае опухолей папиллярного строения с низким злокачественным потенциалом рецидивирования процесса не наблюдалось, среди высокодифференцированных карцином рецидивы наступили у 3 больных (75%), а у больных низкодифференцированным раком они были в 5 случаях (83%). Рецидивы высокодифференцированных карцином в среднем появлялись через 3,5 мес, а низкодиффе-

ренцированные карциномы вновь возникали в среднем срок 5,9 мес.

В нашем исследовании общая выживаемость больных понижалась с возрастанием степени анаплазии карцином: для высокодифференцированного рака она составила 96,7%, для умереннодифференцированных опухолей – 72,9% и среди пациентов с низкодифференцированными карциномами выживаемость была 35%. Данные об однолетней, трехлетней и пятилетней выживаемости пациентов в зависимости от степени дифференцировки и глубины инвазии опухоли представлены на рис. 2.

Продолжительность жизни после операции была нами изучена также с позиций классификации 2004 г. Среди больных низкодифференцированным раком выживаемость была достоверно короче по сравнению с высокодифференцированными опухолями ($t=3,35$; $p=0,007$; $U=2,00$; $p=0,017$; рис. 3). При этом все больные с высокодифференцированным раком мочевого пузыря были живы за период наблюдения, тогда как 63% пациентов с низкодифференцированными карциномами умерли за период наблюдения ($rs=0,60$; $p=0,039$).

Иллюстрацией полученных результатов может служить клинический пример.

Больной Б., 61 год, поступил на урологическое отделение СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова в плановом порядке с жалобами на тотальную макрогематурию. Примесь крови в моче заметил несколько месяцев назад. При цистоскопии уретроскоп введен по уретре свободно, объем мочевого пузыря 300 мл. Слизистая оболочка бледно-розовая, устья мочеточников симметричные. На правой стенке выявляется опухоль размером 3 см, одиночная, ворсинчатая. Больному выполнена ТУР мочевого пузыря, послеоперационный период протекал гладко. В первые 12 ч внутрипузырно был введен тиофосфамид. Послеоперационное течение гладкое, больной выписан на 7-е сутки после операции. Согласно гистологическому заключению – переходно-клеточный рак с инвазией в подслизистый слой. При оценке с позиции гистологической классификации 1973 г. был выявлен рак высокой степени дифференцировки, тогда как с точки зрения классификации карцином мочевого пузыря 2004 г. удаленная опухоль относилась к низкодифференцированным карциномам. Через 9 мес после операции при контрольной цистоскопии был выявлен рецидив рака мочевого пузыря с инвазией в мышечный слой, а также регионарное метастазирование по данным МРТ малого таза. Больной умер от прогрессирования и рецидивирования рака мочевого пузыря через 21 мес после операции.

Данный клинический пример наглядно демон-

стрирует преимущества новой гистологической классификации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ прогностических возможностей традиционных факторов – глубины инвазии и степени дифференцировки подтвердил связь глубины прорастания опухолей мочевого пузыря с выживаемостью больных. В то же время в отношении такого фактора, как степень дифференцировки, нами были получены результаты, отличающиеся в зависимости от применяемой классификации. Классификационная система 1973 г., основанная на трех степенях дифференцировки, оказалась напрямую не связанной с выживаемостью больных. Другой характер взаимоотношений был обнаружен в отношении категорий последней классификации ВОЗ 2004 г.: увеличение степени анаплазии в направлении от папиллярной опухоли с низким злокачественным потенциалом к низкодифференцированным карциномам коррелировало с сокращением времени жизни больных после операции.

С учетом существующих взглядов о целесообразности введения новой классификации к достоинствам новой систематизации следует отнести детальную разработку гистологических диагностических критериев, а также отсутствие промежуточной диагностической категории G2, между которой и крайними степенями дифференцировки происходит самое большое количество диагностических ошибок [6]. Определена категория низкодифференцированных карцином как группа с высоким риском прогрессии, нуждающаяся в интравезикальной терапии. Кроме того, категория папиллярных новообразований с низким злокачественным потенциалом позволяет избежать термина «карцинома» для опухолей с низким риском прогрессии и в то же время не определять их как доброкачественные новообразования, чтобы не упустить возможную прогрессию заболевания.

Недостатками новой классификации остается вопрос о постановке диагноза папиллярного новообразования с низким злокачественным потенциалом. Этот диагноз невозможно поставить при цитологическом исследовании мочи, а при гистологическом обследовании воспроизводимость результатов среди патологов нередко остается низкой. Кроме того, с гистологической точки зрения, дифференциальная диагностика между уротелиальной папилломой и папиллярным новообразованием с низким злокачественным потенциалом крайне трудна. Основным критерием при дифференциров-

ке этих двух категорий является число слоев клеток, воспроизводимость которого ввиду того, что плоскость разреза может проходить под различным углом, весьма низкая.

Таким образом, нами установлено, что категории гистологической классификации 2004 г. в большей степени связаны с выживаемостью больных переходно-клеточным раком мочевого пузыря. Однако применение классификации ВОЗ 2004 г. в настоящее время ограничено отсутствием данных, подтверждающих ее прогностические возможности на продолжительном отрезке послеоперационного наблюдения больных. Кроме того, ввиду того, что все разработанные Европейской Ассоциацией урологов рекомендации по тактике лечения и наблюдения больных раком мочевого пузыря базируются на классификации Mostofi (1973), эту систематизацию необходимо учитывать в практической деятельности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В нашем исследовании удалось определить глубину инвазии карцином, сравнить результаты оценки степени дифференцировки опухолей по двум классификационным системам и сопоставить их с данными диспансерного наблюдения больных. Исследование показало, что категории двух принятых на сегодняшний день классификационных систем предоставляют разную информацию относительно течения рака мочевого пузыря.

Таким образом, применение новой классификационной системы позволяет более точно определить больных с благоприятным прогнозом рака мочевого пузыря.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК:

1. Sobin LH, Wittekind C. TNM classification of malignant tumours. 6th ed. New York: Wiley-Liss 2002:199–202
2. Mostofi FK, Davis CJ, Sesterhenn I. Histological Typing of Urinary Bladder Tumors. Berlin: Springer 1999:20–120
3. Epstein JI, Amin MB, Reuter VE et al. The World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. *Am J Surg Pathol* 1998; 22:1435–1448
4. Gonul II, Poyraz A, Unsal C, Acar C, Alkibay T. Comparison of 1998 WHO/ISUP and 1973 WHO classification for interobserver variability in grading of papillary urothelial neoplasms of the bladder. *Pathological evaluation of 258 cases. Urol Int* 2007; 78(4):338–44
5. Lopez-Beltran A, Montironi R. Non-invasive urothelial neoplasm: according to the most recent WHO classification. *Eur Urol* 2004; 46(2):170–176
6. Alvarez-Kindelan J, Campos-Hernandez JP, Lopez-Beltran A, Requena-Tapia MJ. WHO 2004 classification of bladder tumors: summary and comments. *Actas Urol Esp* 2007;31(9):978–988

Поступила в редакцию 25.01.2010 г.
Принята в печать 02.03.2010 г.

© А.В.Сапелкин, Ю.А.Пономарева, Н.Ю.Крюкова, 2010
УДК 616.62-003.7-073.75-072.1]-089.48:612.117.2

А.В. Сапелкин¹, Ю.А. Пономарева¹, Н.Ю. Крюкова¹

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПОЧЕЧНОГО КРОВотоКА У БОЛЬНЫХ УРЕТЕРОЛИТИАЗОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ДРЕНИРОВАНИЯ ВЕРХНИХ МОЧЕВЫХ ПУТЕЙ ПОСЛЕ РЕНТГЕНОЭНДОСКОПИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ

A.V. Sapelkin, Yu.A. Ponomareva, N.Yu. Krukova

DYNAMICS OF RENAL BLOOD FLOW INDEXES IN PATIENTS WITH URETERAL STONES DEPENDING OF METHODS POSTOPERATION DRAINAGE

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

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬЮ ИССЛЕДОВАНИЯ явилось изучение показателей почечного кровотока у больных с камнями мочеточника на фоне ретенционных изменений верхних мочевых путей и влияния различных методов послеоперационного дренирования на восстановление почечной гемодинамики. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Было обследовано 77 больных с камнями мочеточника (средний возраст $47,5 \pm 1,8$ года). Всем пациентам с помощью УЗИ и доплерографического исследования определяли спектр скоростей кровотока с определением максимальной (пиковой) систолической скорости ($V_{\max}$ с), конечной диастолической скорости (V_{kd}), индекса резистентности и пульсационного индекса до удаления камня мочеточника и на 3–5-й день после уретеролитоэкстракции. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** У 30 больных не было выявлено нарушений почечного кровотока на фоне ретенционных изменений верхних мочевых путей, вызванных камнем мочеточника. У этих пациентов статистически достоверно было установлено, что способ дренирования, так же как и отказ от него, не влиял на почечную гемодинамику ($p > 0,2$). В 47 случаях было зарегистрировано нарушение почечного кровотока. При бездренажном ведении послеоперационного периода у всех пациентов выявлено ухудшение почечной гемодинамики. При умеренных нарушениях кровотока гемодинамика почки восстанавливалась одинаково как при использовании мочеточникового катетера, так и при установке стента. Доказано, что выраженные нарушения почечного кровотока требуют более длительного дренирования верхних мочевых путей ($p = 0,03$). **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Применение доплерографического метода для определения нарушений кровотока на дооперационном периоде у больных с камнями мочеточника позволяет выработать адекватный метод дренирования верхних мочевых путей в послеоперационном периоде для профилактики развития воспалительных осложнений.

Ключевые слова: почечный кровоток, ретенционные изменения верхних мочевых путей, обтурационный пиелонефрит.

ABSTRACT

Purpose of the study was to investigate indicators of renal blood flow in patients with ureteral stones on a background retention changes in the upper urinary tract and the influence of different methods of postoperative drainage for the restoration of renal hemodynamics. **PATIENTS AND METHODS.** Were examined 77 patients with ureteral stones (mean age $47,5 \pm 1,8$ years). All patients with ultrasound and dopplerographic study determined the spectrum of the velocity of blood flow to the definition of the maximum (peak) systolic velocity ($V_{\max}$ c), end diastolic velocity (V_{kd}) resistance pulsatile index to remove ureteral stones and for 3-5 days after ureterolithoextraction. **RESULTS.** 30 patients did not reveal violations of renal blood flow against changes distention of the upper urinary tract caused by ureteral stones. In these patients was statistically significant, it was found that the method of drainage, as well as the refusal of him, had no effect on renal hemodynamics ($p > 0.2$). In 47 cases were registered for renal blood flow. When postoperative care without drainage showed deterioration of renal hemodynamics. At moderate violations of renal hemodynamics of blood flow was restored the same way as when using ureteral catheter, or during the installation of the stent. It is proved that the expressed infringements of renal blood flow require a longer drainage of the upper urinary tract ($p = 0,03$). **CONCLUSION.** Application dopplerographic method for determining violations of blood flow in the preoperative period in patients with ureteral stones can develop an appropriate method of drainage of the upper urinary tract in the postoperative period to prevent the development of inflammatory complications.

Key words: renal blood flow, changes in distention of the upper urinary tract, obstructive pyelonephritis.

ВВЕДЕНИЕ

Среди заболеваний урологического профиля мочекаменная болезнь (МКБ) является наиболее распространенной. Она встречается у 30–45% урологических больных самого трудоспособного возраста (30–50 лет) [1, 2]. У 43,8–50% больных, страдающих МКБ, встречаются камни мочеточников [2]. Самым частым дебютом уретеролитиаза является почечная колика, вызванная острой окклюзией мочеточника конкрементом, а ее самым опасным осложнением – активный обтурационный пиелонефрит. Тяжесть осложнений, преимущественное поражение лиц молодого и наиболее трудоспособного возраста выдвигают вопросы диагностики и лечения уретеролитиаза в ряд важнейших в урологии [1, 3].

В последнее десятилетие количество открытых операций по поводу камней мочеточника значительно снизилось (по данным урологической клиники ММА им. И.М.Сеченова с 5,1 до 0,3%), что связано с развитием и внедрением эндоскопической аппаратуры, созданием новых контактных литотриптеров, совершенствованием методик уретеролитоэкстракций и контактных уретеролитотрипсий [4]. Однако клиническая эффективность использования любого метода лечения больных МКБ зависит от восстановления и обеспечения адекватного оттока мочи из верхних мочевых путей, а также от степени выраженности воспалительного процесса [5]. Эти два фактора находятся в прямой и непосредственной зависимости друг от друга, так как все усилия, направленные на ликвидацию воспалительного процесса в почке, будут успешны лишь при восстановлении адекватного оттока мочи из нее. Поэтому вопрос дренирования верхних мочевых путей после эндоскопического лечения камней мочеточника так важен [6].

Необходимость дренирования верхних мочевых путей в послеоперационном периоде очевидна: оно позволяет избежать нарушения уродинамики и, тем самым, уменьшить болевую симптоматику, почечную колику, развитие обструктивного пиелонефрита. Для дренирования верхних мочевых путей применяют мочеточниковые катетеры, стенты, перкутанные нефростомические дренажи. До недавнего времени внутреннее дренирование почки стентом считалось «идеальным» методом дренирования. Но исследования последних лет доказали, что «идеального» метода дренирования для больных мочекаменной болезнью не существует. Так как даже самое малоинвазивное вмешательство ухудшает качество жизни пациента. Поэтому выбор метода послеоперационного дренирования в каждом конкретном случае должен быть индивидуальным [7, 8].

При наличии камня мочеточника создаются условия для нарушения пассажа мочи, что приводит к развитию тяжелых гемодинамических нарушений в почке, которые способствуют развитию и прогрессированию воспаления. Для регистрации данных гемодинамических расстройств используется доплерографический метод, который относится к функциональным тестам, выясняющим значимость дилатации чашечно-лоханочной системы, в отличие от экскреторной и ретроградной пиелографии, которые в большей степени определяют анатомические аспекты обструкции [9]. Гемодинамические расстройства на фоне ретенционных изменений в почке при уретеролитиазе до настоящего времени остаются малоизученными, хотя степень нарушения скоростных и индексных показателей кровотока может довольно точно показать значимость обструкции и помочь в выборе метода дренирования для предупреждения развития осложнений в послеоперационном периоде.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явились 77 больных с камнями мочеточника. Уретеролитиазом чаще страдали женщины – 47 (61,1%) случаев, в 30 (38,9%) случаях камни мочеточника выявляли у мужчин. Возраст больных варьировал от 24 до 71 года, в среднем составил $47,5 \pm 1,8$ года. У всех больных камни мочеточника локализовались в нижней трети мочеточника. Размер конкремента варьировал от 0,5 до 1,0 см.

Для определения состояния верхних мочевых путей всем больным проводилось ультразвуковое обследование, при котором оценивалось состояние чашечно-лоханочной системы и верхней трети мочеточника (наличие или отсутствие ретенционных изменений). Функциональная активность почек определялась при помощи внутривенной урографии. Всем больным производилось клиничко-лабораторное исследование крови и мочи (особое внимание обращалось на наличие лейкоцитурии). Оценивалась также длительность нахождения конкремента в мочеточнике. Всем пациентам этой группы выполнялась уретеролитоэкстракция при помощи ригидного уретероскопа фирмы «Shtorz». В послеоперационном периоде верхние мочевые пути не дренировались у 22 (28,6%) пациентов, в 30 (38,9%) случаях использовали мочеточниковый катетер, у 25 (32,4%) больных для дренирования применяли стент.

С помощью методики доплерографического исследования изучался кровоток в почках. Исследования проводились в режиме ЦДК (цветного доплеровского кодирования) и в режиме импульсно-волновой доплерографии, в положении паци-

ента лежа (на спине, правом и левом боку), на аппарате «Аloka 4000» с использованием конвексного датчика с частотой сканирования от 3,5 до 5 МГц.

В режиме ЦДК определялось направление сосуда для оптимальной коррекции угла сканирования. В режиме импульсно-волновой доплерографии исследовался спектр скоростей кровотока с определением максимальной (пиковой) систолической скорости ($V_{\max}$), конечной диастолической скорости ($V_{\text{кд}}$). В дальнейшем определялись индекс резистентности (RI) и пульсационный индекс (PI). Определялись показатели в сегментарных, дуговых и паренхиматозных артериях. Исследования проводились в 2 сосудах каждого уровня, с последующим определением средних показателей. Для разделения больных на группы мы использовали значения среднего индекса резистентности (RI) в почечной артерии и среднюю разницу по этому показателю между здоровой почкой и почкой, в мочеточнике которой находился конкремент (dRI), так как абсолютные скоростные показатели кровотока ($V_{\text{пс}}$ и $V_{\text{кд}}$), в отличие от индексов, в значительной степени зависят от угла сканирования (угол между страбируемым объемом и направлением сосуда) и очень сильно зависят от угла наклона страбируемого объема. Допплерографическое исследование производилось на дооперационном этапе и на 5-й день после удаления конкремента.

Полученные данные были обработаны с помощью компьютерной программы Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Под нарушениями почечного кровотока в нашем исследовании мы принимали повышение RIsp более чем на 0,02 по сравнению со здоровой почкой (dRI>0,02).

Нарушений почечной гемодинамики не было выявлено у 30 (39,0%) из 77 пациентов. Средний индекс резистентности в пораженной почке у этих пациентов не изменялся или повышался средней разницы по этому показателю между здоровой почкой и почкой, в мочеточнике которой находился конкремент (dRI), было не более чем на 0,02 (или на 3,6%). На рис. 1 наглядно представлено достоверное снижение среднего индекса резистентности в пораженной почке вне зависимости от метода дренирования – показатели приближались к таковым в здоровой почке практически одинаково как на фоне дренирования верхних мочевых путей мочеточниковым катетером, стентом, так и без дренирования мочевых путей ($p>0,2$).

Клинически послеоперацион-



Рис. 1. Изменения индекса резистентности у больных с камнями мочеточника без нарушения почечного кровотока в зависимости от метода дренирования.

ный период в этой группе больных протекал без осложнений. Пациенты не лихорадили, ретенционные изменения верхних мочевых путей уменьшались на 3–5-е сутки после удаления камня мочеточника. Пациенты, которым мочевые пути дренировались мочеточниковым катетером или стентом, предъявляли жалобы на дискомфорт в мочевых путях из-за наличия дренажей.

У 47 (61,0%) из 77 пациентов имелись нарушения почечного кровотока на фоне ретенционных изменений верхних мочевых путей, вызванных камнем мочеточника. В табл. 1 представлены данные доплерографических исследований почечного кровотока у 15 пациентов без дренирования верхних мочевых путей в послеоперационном периоде, которые статистически достоверно отражают отсутствие положительной динамики в восстановлении почечного кровотока после удаления камня мочеточника ($p=0,07$). При умеренных нарушениях кровотока (dRI=0,03–0,05) средние индексы резистентности в пораженной почке не снижались, а при выраженных нарушениях кровотока (dRI>0,05) даже увеличивались ($p=0,49$).

Клиническая картина послеоперационного периода у этих пациентов характеризовалась наличием болей в поясничной области и развитием активной фазы хронического пиелонефрита.

При дренировании верхних мочевых путей мочеточниковым катетером в случае умеренных нарушений кровотока индексные и скоростные пока-

Таблица 1
Изменения IR ср в здоровой и пораженной почках до и после оперативного лечения без дренирования верхних мочевых путей в группе больных с нарушениями почечной гемодинамики

Показатель	Здоровая почка	Пораженная почка	p
RI ср до оперативного лечения	0,66 ± 0,02	0,69 ± 0,03	0,07
RI ср после оперативного лечения	0,66 ± 0,02	0,69 ± 0,02	0,49

Таблица 2

Изменения IR ср в здоровой и пораженной почках до и после оперативного лечения на фоне дренирования верхних мочевых путей мочеточниковым катетером в группе больных с нарушениями почечной гемодинамики

Показатель	Умеренные нарушения кровотока (dRIcp= 0,03–0,05)		р	Выраженные нарушения кровотока (dRIcp >0,05)		р
	Здоровая почка	Пораженная почка		Здоровая почка	Пораженная почка	
RI ср до оперативного лечения	0,65 ± 0,03	0,69 ± 0,02	0,005	0,67 ± 0,03	0,73 ± 0,01	0,0004
RI ср после оперативного лечения	0,65 ± 0,03	0,65 ± 0,02	0,005	0,67 ± 0,03	0,76 ± 0,02	0,009

Изменения IR ср в здоровой и пораженной почках до и после оперативного лечения на фоне дренирования верхних мочевых путей стентом в группе больных с нарушениями почечной гемодинамики

Показатель	Здоровая почка	Пораженная почка	р
RI ср до оперативного лечения	0,64 ± 0,03	0,69 ± 0,02	0,01
RI ср после оперативного лечения	0,64 ± 0,03	0,65 ± 0,01	0,3

Таблица 3

периоде. Развитие данных осложнений напрямую зависит от состояния почечной гемодинамики, так как очевидно, что развитие воспалительных осложнений более вероятно в почке с нарушением кровотока при нарушенном оттоке мочи [10–13].

Из вышепредставленных данных видно, что при отсутствии нарушений почечного кровотока на этапе дооперационного обследования больных метод дренирования не влияет на изменения почечной гемодинамики в послеоперационном периоде. Поэтому в данном случае при неосложненной уретолитоэкстракции возможно вообще отказаться от дренирования верхних мочевых путей, избавляя пациента от лучевой нагрузки, инородного тела в мочевыводящих путях, повторных инвазивных вмешательств для удаления дренажей.

В группе пациентов с нарушениями почечной гемодинамики отсутствие дренирования верхних мочевых путей приводило к еще большему ухудшению кровотока, что способствовало развитию обтурационного пиелонефрита. В зависимости от степени изменений почечного кровотока необходимо выбирать и метод дренирования верхних мочевых путей в послеоперационном периоде. При

затели почечного кровотока у пациентов (n=8) улучшались. При выраженных нарушениях почечной гемодинамики (n=12) использование мочеточникового катетера не обеспечивало адекватного дренирования верхних мочевых путей, о чем свидетельствовало ухудшение кровотока в почке на фоне мочеточникового катетера (табл.2).

Пациенты с умеренными нарушениями почечной гемодинамики на фоне дренирования верхних мочевых путей катетером не имели осложнений воспалительного характера в послеоперационном периоде, тогда как у больных с выраженными нарушениями почечной гемодинамики после удаления катетера послеоперационный период осложнился атаками пиелонефрита, для купирования которого в 33,3% случаев потребовалось установить стент.

В табл. 3 наглядно продемонстрировано, что при выраженных нарушениях почечного кровотока использование для послеоперационного дренирования верхних мочевых путей стента способствует восстановлению почечной гемодинамики.

Больные, которым после уретолитоэкстракции устанавливали стент, не имели воспалительных осложнений в послеоперационном периоде.

ОБСУЖДЕНИЕ

Из клинических наблюдений за больными с различными методами дренирования верхних мочевых путей после уретолитоэкстракции отмечено, что при адекватном дренировании верхних мочевых путей существенно сокращается риск воспалительных осложнений в послеоперационном

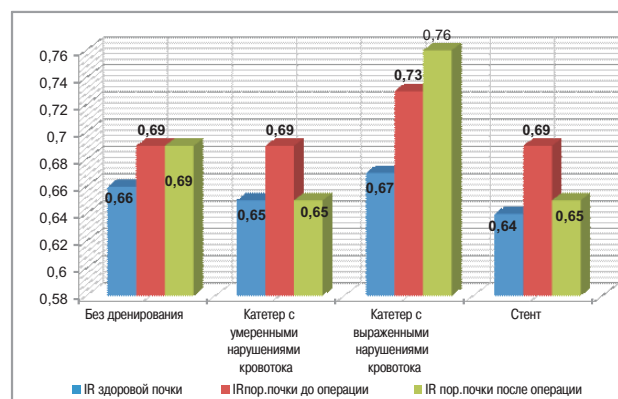


Рис. 2. Изменения индекса резистентности у больных с камнями мочеточника с нарушениями почечного кровотока в зависимости от метода дренирования.

умеренных нарушениях кровотока для его восстановления достаточно, как правило, 2–4 дня. На этот непродолжительный срок возможно адекватно дренировать верхние мочевые пути используя мочеточниковый катетер. Установка стента показана пациентам с более выраженными изменениями почечной гемодинамики, так как для ее восстановления требуется более длительное нахождение дренажа в мочевыводящих путях для обеспечения хорошего оттока мочи (рис. 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение эходоплерографического метода исследования почечного кровотока на фоне ретенционных изменений верхних мочевых путей у больных с камнями мочеточника позволяет установить степень нарушений почечной гемодинамики. Использование данных, полученных на этапе дооперационного обследования, позволяет наиболее точно определить необходимость применения того или иного метода послеоперационного дренирования верхних мочевых путей для более успешного восстановления почечного кровотока и профилактики развития воспалительных осложнений в послеоперационном периоде при лечении больных уретеролитиазом с применением рентгеноэндоскопических методик.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Трапезникова МФ, Дутов ВВ, Морозов АП, Кулачков СМ, Бейзеров ИМ. Тактика лечения при «каменной дорожке». Материалы Пленума правления Всероссийского общества урологов (Саратов, 15–17 сентября 1998). М., 1998; 336
2. Тиктинский ОЛ, Александров ВП. *Мочекаменная болезнь*. СПб. и др.: Питер, 2000; 234–238
3. Яненко ЭК, Румянцев ВБ, Сафаров РМ, Ступак НВ. Окклюзия мочевыводящих путей – основная причина развития ряда осложнений мочекаменной болезни. *Урология* 2003; 1: 17–20
4. Аляев ЮГ, Руденко ВИ, Газимиев М-С А, Кузьмичева ГМ. Современные аспекты диагностики и лечения мочекаменной болезни. *Урология* 2006; 2: 6–11
5. Лопаткин НА, Аль-Мусаи Ш, Мартов АГ и др. Неотложная трансуретральная уретеролитотрипсия в лечении obstructивных камней мочеточников. Материалы Пленума правления Российского общества урологов (Сочи 28–30 апреля 2003). М., 2003; 408–409
6. Аляев ЮГ, Руденко ВИ, Газимиев МА и др. Виды стентирования мочеточника после контактной уретеролитотрипсии. Материалы Первого Российского конгресса по эндоурологии (Москва, 4–6 июня 2008). М., 2008; 126–127
7. Трапезникова МФ, Дутов ВВ, Базаев ВВ, Дорончук ДН. К вопросу о необходимости стентирования верхних мочевых путей после неосложненной контактной уретеролитотрипсии. Материалы Первого Российского конгресса по эндоурологии (Москва, 4–6 июня 2008). М., 2008; 257–258
8. Трапезникова МФ, Дутов ВВ, Базаев ВВ, Дорончук ДН, Иванов АЕ. «Идеальное» дренирование верхних мочевых путей при лечении мочекаменной болезни. Материалы Первого Российского конгресса по эндоурологии (Москва, 4–6 июня 2008). М., 2008; 265–266
9. Аляев ЮГ, Чалый МЕ, Сеницын ВЕ, Григорян ВА. *Эходоплерография в урологии. Руководство для практикующих врачей*. М.: Литтерра, 2007; 123–168
10. Аляев ЮГ, Рапопорт ЛМ, Чалый МЕ, Руденко ВИ. Допплерография в определении сроков повторных сеансов дистанционной ударно-волновой литотрипсии. Материалы региональной научно-практической юбилейной конференции урологов Республики Башкортостан. Уфа, 1999; 46–47
11. Аляев ЮГ, Рапопорт ЛМ, Руденко НА, Григорьев НА. Мочекаменная болезнь. Актуальные вопросы диагностики и лечения. *Врач сословие* 2004; 4: 9
12. Gottlieb RH, Luhmann K, Oates RP. Duplex ultrasound evaluation of normal kidneys and native kidneys with urinary tract obstruction. *J Ultrasound Med* 1989; 8: 609–611
13. Inoue W, Azuma Y, Iida A et al. Hemodynamic study of hydronephrosis using Doppler color flow imaging. *Ultrasound Med Biol* 1994; 20 (1): 162

Поступила в редакцию 14.05.2009 г.
Принята в печать 02.03.2010 г.

© М.М.Волков, И.Г.Каюков, А.В.Смирнов, 2010
УДК 546.18+546.41]-008.9-08

М.М. Волков¹, И.Г. Каюков^{2,3}, А.В. Смирнов^{1,2}

ФОСФОРНО-КАЛЬЦИЕВЫЙ ОБМЕН И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ

M.M. Volkov, I.G. Kayukov, A.V. Smirnov

PHOSPHORUS-CALCIUM METABOLISM AND ITS REGULATION

¹Кафедра пропедевтики внутренних болезней, ²научно-исследовательский институт нефрологии, ³кафедра нефрологии и диализа Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им.акад. И. П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

Рассмотрены вопросы обмена кальция и фосфора в организме, включая его гормональную регуляцию, а также этиология, симптомы, диагностика и лечение гиперкальциемии, гипокальциемии, гипофосфатемии и гиперфосфатемии.

Ключевые слова: кальций, фосфат, паратгормон, витамин D, гиперкальциемия, гипокальциемия, гипофосфатемия, гиперфосфатемия.

ABSTRACT

The resolved the questions of exchange of calcium and phosphorus in the body, including its hormonal regulation, as well as the etiology, symptoms, diagnosis and treatment of hypercalcemia, hypocalcemia, hypophosphatemia and hyperphosphatemia.

Key words: calcium, phosphate, parathyroid hormone, vitamin D, hypocalcemia, hypercalcemia, hypophosphatemia, hyperphosphatemia.

Обмен кальция и фосфата в организме

В организме взрослого человека содержится в среднем около 1–2 кг кальция (Ca), который находится в основном в костях (99%) в форме гидроксиапатита: $3[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]\text{Ca}(\text{OH})_2$. Из оставшейся незначительной части, содержащейся во внеклеточной жидкости (ВКЖ), 60% представлено несвязанным с белком ультрафильтруемым Ca (способным проходить через клеточные мембраны), в свою очередь, состоящим из ионизированного (50%) и комплексированного Ca, связанного с такими анионами, как цитрат, фосфат, сульфат и бикарбонат (10%). Оставшиеся 40% Ca ВКЖ находятся в соединении с белками (преимущественно альбумином). Только концентрация ионизированного Ca является физиологически активной и регулируемой. Кальций костной ткани непрерывно обменивается с Ca внеклеточной жидкости. Суммарный обмен данного элемента между этими депо достигает 5–12 ммоль/сут.

При обычной диете поступает 800–1200 мг Ca, из которых примерно 200 мг всасываются в кишечнике. В равновесном состоянии суммарная кишечная абсорбция Ca соответствует почечной экскреции. В результате из ежедневно фильтруемого в почках 10 800 мг Ca реабсорбируется 10 600 (98%) [1]. Реабсорбция кальция в прокси-

мальных канальцах составляет 60–70% профильтрованного Ca, в толстом восходящем отделе петли Генле – 20–25%, в дистальном извитом канальце – 5–10%, в собирательных трубках – 0,5–1%. В клетку кальций поступает, по-видимому, через кальциевые каналы, а из клеток удаляется $\text{Ca}^{2+}\text{-Na}^{+}$ -котранспортером или Ca^{2+} помпой [2].

Основная часть фосфата (P), как и Ca, находится в скелете (80%), и только около 10% – в скелетной мускулатуре и внутренних органах. Лишь незначительная фракция P является неорганической и может быть использована для синтеза аденозинтрифосфата (АТФ).

Около 2/3 общего P сыворотки представлено органическими соединениями (фосфолипидами) и 1/3 – неорганическим P. В лаборатории определяют только неорганический P сыворотки крови (норма 0,89–1,44 ммоль/л). Около 85% его циркулирует в несвязанном состоянии: в виде HPO_4^{2-} или $\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$ [1], причем соотношение этих ионов зависит от pH внеклеточной жидкости. Оставшиеся 10% P сыворотки связаны с белком и 15% – находятся в комплексной связи с кальцием или магнием.

В среднем за сутки с пищей поступает 800–1400 мг P, 80% из которого всасывается в тонкой кишке. В основном P всасывается пассивно, но есть и активный компонент, регулируемый кальцитриолом (рис. 1). В почках 80% профильтрованного P реабсорбируется в проксимальных канальцах, 10% – всасывается в дистальных канальцах и

Волков М.М. 197022, Санкт-Петербург, ул. Л.Толстого, д. 17, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Нефрокорпус, тел.: (812)-234-91-94, E-mail: vmm58@mail.ru

только 10% – экскретируется с мочой [2]. Реабсорбция Р носит насыщаемый характер, пока не исчерпывается мощность транспортной системы, характеризуемой максимальной реабсорбцией Р. Излишек профильтрованного Р, превышающий эту величину, экскретируется с мочой, а при значениях ниже порогового выведение фосфата снижается. Поступление Р в клетку проксимального канальца осуществляется посредством Na-Р-котранспортеров I и II типов, в значительной степени совпадающих по строению, основная функция которых по реабсорбции фосфата принадлежит Na-Р II типа. Na-Р-котранспортер II типа способен переносить через апикальную мембрану канальцевых клеток как моно-, так и дивалентные фосфаты. ПТГ и потребление Р регулируют активность Na-Р котранспортера II типа. ПТГ ингибирует активность котранспортера, уменьшая число его молекул на апикальной мембране за счет их перехода в субапикальное пространство [2]. Концентрацию Р сыворотки крови регулируют гормоны: ПТГ, КТ и фактор роста фибробластов 23 (ФРФ23) (рис.2). Почечная экскреция Р является основным регулятором его содержания в сыворотке крови.

Гормональная регуляция Са-Р обмена

Основными гормонами, регулирующими Са-Р обмен являются ПТГ, КТ и кальцитонин. Значимость последнего у людей в отличие от животных не установлена, так как он не оказывает существенного влияния на регуляцию кальциевого гомеостаза. Недавно обнаружены новые гормоны: ФРФ23 и клото.

ПТГ представляет собой линейный полипептид, состоящий из 84 аминокислотных остатков молекулярной массой около 9500 Да. Он продуцируется главными клетками парашитовидных желез (ПЩЖ). Концентрация Ca^{2+} в сыворотке крови является основным модулятором секреции ПТГ. Стимуляция кальций-чувствительных рецепторов (КЧР) ПЩЖ через каскад реакций приводит в конечном итоге к подавлению секреции ПТГ. Дополнительным стимулом увели-

чения секреции ПТГ является гиперфосфатемия. ПТГ оказывает следующие физиологические эффекты: стимулирует резорбцию кальция из костной ткани, реабсорбцию кальция в почечных канальцах, гидроксилирование $25(\text{OH})\text{D}$ в $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ в почках, экскрецию фосфата почками. ПЩЖ быстро реагируют (в течение минут) на изменения концентрации Ca^{2+} сыворотки крови. Обратная сигмоидальная зависимость существует между концентрацией Ca^{2+} во ВКЖ и секрецией ПТГ, причем базальная секреция этого гормона присутствует даже при высокой концентрации Са плазмы. Запасов ПТГ в ПЩЖ достаточно для поддержания базальной секреции в течение 6 ч и стимулированной в течение 2 ч.

$1,25(\text{OH})_2$ витамин D, кальцитриол (КТ) или D-гормон. С биологической точки зрения, КТ является полноценным стероидным гормоном, так как синтезируется в организме и обладает высокоспецифичным рецептором витамина D (РВД). Большая часть витамина D (ВД) (90–95%) образуется в коже под влиянием ультрафиолетового облучения, меньшая часть поступает с животной (витамин D_3) или растительной (D_2) пищей (рис.1). Запасы ВД сохраняются в основном в печени с периодом полураспада примерно 14 дней. При всасывании большого количества ВД его избыток сохраняется в основном в жировой ткани. Далее витамин D (D_3 и D_2) в ассоциации с витамин D-связывающим белком переносится в печень, где гидроксилируется с образованием $25(\text{OH})\text{D}$ или кальцидиола (КД), который в дальнейшем претерпевает 1α -гидроксилирование в почечных канальцах, превращаясь в активную форму витамина D –

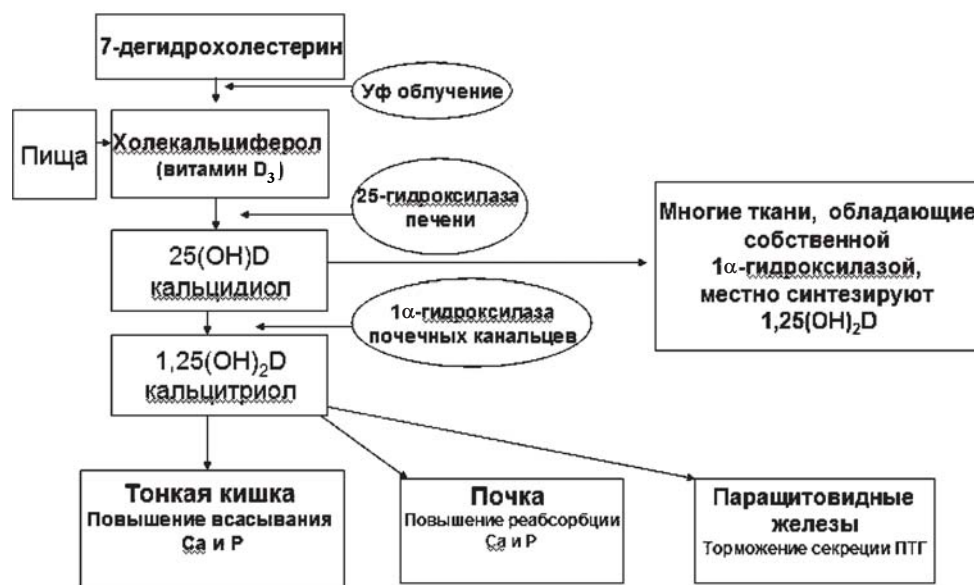


Рис.1 Образование и основные эффекты витамина D.

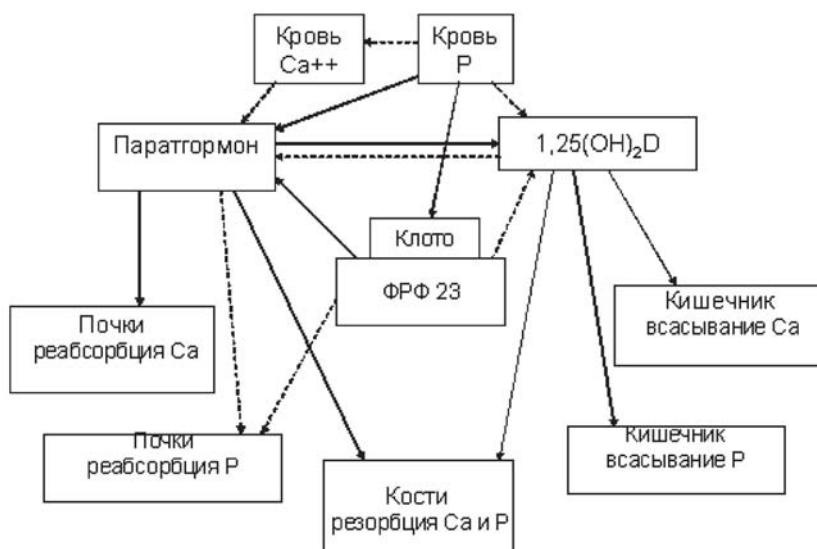


Рис. 2. Схема регуляции фосфорно-кальциевого баланса (показаны основные эффекты гормонов). Са — кальций, Р — фосфат, ФРФ 23 — фактор роста фибробластов 23, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ — кальцитриол или D-гормон. Стрелки со сплошной линией — стимулирующий эффект, со штриховой — тормозящий.

кальцитриол (КТ) или D-гормон, который действует через РВД. Основные эффекты D-гормона заключаются в повышении всасывания Са и фосфата Р в тонкой кишке. Значительно более слабое влияние он оказывает на почки, приводящее к усилению реабсорбции Са и Р. Кроме того, D-гормон тормозит секрецию ПТГ. Он также способствует минерализации костей и резорбции из них Са. Следует отметить, что КД играет не менее важную роль, чем КТ, так как многие ткани обладают собственной 1α -гидроксилазной активностью и способны превращать КД в КТ для собственных потребностей (аутокринная функция ВД).

ФРФ 23 представляет собой протеин с молекулярной массой 30 кДа, который расщепляется энзимом проконвертазного типа на 2 меньших фрагмента: 18 кДа (амино-фрагмент) и 12 кДа (карбокси-фрагмент) [3] и имеет собственный рецептор. Для реализации эффектов ФРФ23 на органы необходим белок клото [4], представляющий собой β -глюкозидазу, которая присоединяется к рецептору ФРФ 23 и С-терминалу этого гормона, тем самым конвертируя канонические рецепторы ФРФ 23 в специфические [4]. Белок клото является трансмембранным протеином, который помимо других эффектов, обеспечивает в определенной мере чувствительность организма к инсулину и замедляет процесс старения в опытах на животных. Открытый еще в 1997 г., ген клото свое название получил в честь одной из трех древнегреческих мойр — богинь судьбы (Лахесис назначает жизненный жребий, Клото прядет нить жизни, а Атропос обрывает жизненную нить). ФРФ23 оказывает фос-

фатурический эффект, стимулирует секрецию ПТГ и тормозит 1α -гидроксилазную активность почек, приводя к снижению синтеза КТ и его уровня в сыворотке крови [4, 5].

Кальцитонин оказывает значительно меньшее влияние на Са-Р обмен. Этот пептидный гормон, состоящий из 32 аминокислот, секретируется С-клетками щитовидных желез. Стимулом для увеличения секреции является повышение концентрации Ca^{2+} в плазме крови. Гормон обладает гипокальциемическим действием за счет подавления активности и формирования остеокластов (уменьшения костной резорбции), а также, возможно, за счет снижения реабсорбции Са и Р в почках и уменьшения абсорбции Са в кишечнике.

Общая схема регуляции Р-Са обмена показана на рис. 2.

Основные гормоны, участвующие в регуляции Са-Р баланса: ПТГ, D-гормон и ФРФ 23.

ПТГ увеличивает реабсорбцию Са и снижает реабсорбцию Р в почках, повышает обмен в костях, вызывая резорбцию Са и Р, стимулирует синтез КТ. Секрецию ПТГ стимулирует низкий уровень Ca^{2+} сыворотки крови за счет воздействия на КЧР. Высокий уровень Р сыворотки также способствует повышению уровня ПТГ. КТ, действуя на РВД ПЩЖ, тормозит образование и секрецию ПТГ.

Синтез КТ стимулируют низкий уровень Р сыворотки и высокая концентрация ПТГ. D-гормон повышает абсорбцию Са и Р в кишечнике; несколько увеличивает реабсорбцию этих веществ в почечных канальцах, а также тормозит секрецию ПТГ, действуя на РВД ПЩЖ.

ФРФ 23 — фосфатурический гормон, синтезируемый в костях, снижает реабсорбцию фосфата в почечных канальцах, что ведет к падению уровня Р плазмы. Этот гормон также подавляет секрецию ПТГ и снижает синтез КТ, являясь его прямым антагонистом.

Белок Клото синтезируется в почках и необходим для реализации эффектов ФРФ23.

Кальцитонин (не указан на схеме) — несколько снижает Са сыворотки крови за счет торможения реабсорбции кальция в почках и кишечнике, снижения резорбции Са и Р из костей.

Ионизированный Са плазмы регулируется сложным и координированным воздействием ПТГ, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ на кишечник, кости и почки [1]. Клет-

ки ПЩЖ реагируют на концентрацию Ca^{2+} крови посредством КЧР. Высокая концентрация Ca^{2+} во ВКЖ стимулирует эти рецепторы и активирует клеточные механизмы, что, в конечном итоге, приводит к торможению выделения ПТГ. Низкая концентрация Ca^{++} во ВКЖ стимулирует КЧР и секрецию ПТГ и вызывает гиперплазию ПЩЖ. В костях ПТГ в присутствии пермиссивного количества КТ способствует резорбции Са за счет повышения активности остеокластов. В кишечнике ПТГ повышает реабсорбцию Са и Р посредством повышения продукции КТ. Главными стимуляторами 1α -гидроксилазы являются высокий уровень в сыворотке ПТГ и гипофосфатемия. КТ обеспечивает поступления Са и Р для образования костей и предупреждения симптоматической гипокальциемии и гипофосфатемии. В кишечнике и почках этот гормон повышает образование Са-связывающих протеинов (кальбидинов), способствующих трансмембранному транспорту Са. В костях КТ потенцирует эффекты ПТГ, стимулирует резорбцию кости остеокластами и индуцирует дифференциацию моноцитов в остеокласты. В ПЩЖ КТ связывается с рецептором витамина D, что приводит к торможению продукции ПТГ.

Поддержание оптимального уровня Р сыворотки обеспечивается взаимодействием гормонов, как снижающих уровень Р крови вследствие фосфатурического эффекта (ПТГ и ФРФ23), так и повышающих Р за счет увеличения его абсорбции в кишечнике (КТ) и его резорбции из костей (ПТГ, КТ). ПТГ прямо влияет на кости, стимулируя остеокласты и резорбцию Р и косвенно повышает всасывание Р в тонкой кишке посредством стимуляции продукции КТ. Влияние ПТГ на почечные каналцы приводит к снижению реабсорбции Р и повышенной его экскреции за счет уменьшения количества Na-Р котранспортеров в люминальных мембранах почечных каналцев. В целом повышения секреция ПТГ приводит к снижению уровня Р сыворотки. Основная роль КТ — повысить доступность Са и Р для образования новой кости и предупредить развитие гипокальциемии и гипофосфатемии. Этот гормон повышает всасывание Р в кишечнике и увеличивает его концентрацию в сыворотке. Гипофосфатемия способствует образованию Na-Р котранспортеров в почечных каналцах и росту величины реабсорбции Р. ФРФ23, как и ПТГ, обладает мощным фосфатурическим эффектом, действуя посредством стимуляции собственных рецепторов, для нормальной функции которых нужен кофактор — белок клото, синтезируемый в почках. Снижение Р под влиянием ФРФ 23 достигается подавлением реабсорбции Р в почечных

каналцах, а также за счет стимуляции секреции ПТГ и подавления синтеза КТ в почечных каналцах.

Нарушения Са-Р баланса проявляются изменением уровней Са, Р сыворотки крови, изменением содержания гормонов сыворотки крови (ПТГ, КТ, КД), развитием костной патологии и эктопической кальцификации сосудов и мягких тканей. Далее будут рассмотрены этиология, патогенез, клинические проявления, диагностика и лечения изменений содержания Са и Р сыворотки крови (гиперкальциемии, гипокальциемии, гиперфосфатемии и гипофосфатемии).

Гиперкальциемия

Гиперкальциемия подразделяется на незначительную — с уровнем Са крови 2,66–3,0 ммоль/л, умеренную — от 3,1 до 3,5 ммоль/л и тяжелую — выше 3,5 ммоль/л

Этиология. В основе гиперкальциемии лежат 3 основных патофизиологических механизма: повышение абсорбции Са в ЖКТ, снижение почечной экскреции Са и повышение резорбции Са из костей [1]. Гиперкальциемия вызывает подавление секреции антидиуретического гормона, усиление эффекта диуретиков, что может приводить к уменьшению объема ВКЖ и к снижению скорости клубочковой фильтрации (СКФ). Основная патология, сопровождающаяся гиперкальциемией, рассмотрена ниже.

1. Повышенная абсорбция Са в ЖКТ наблюдается при молочно-щелочном синдроме, интоксикации ВД и гранулематозных заболеваниях. Молочно-щелочной синдром развивается при избыточном потреблении Са и щелочей, в прошлом — молока и бикарбоната натрия соответственно. В настоящее время этот синдром наиболее часто встречается у пожилых женщин, принимающих избыточное количество карбоната или цитрата Са для лечения остеопороза. У пациентов имеет место триада симптомов: гиперкальциемия, алкалоз и почечная недостаточность [6]. Лечение гиперкальциемии у этих пациентов часто осложняется гипокальциемией из-за избыточного подавления секреции ПТГ. Без почечной недостаточности значительное поступление Са не приводит к гиперкальциемии. При снижении СКФ гиперкальциемия встречается нечасто и только у пациентов, получающих лечения препаратами Са и витамином D.

Интоксикация витамином D также приводит к гиперкальциемии, так как Са усиленно всасывается в тонкой кишке.

При гранулематозных болезнях, таких как сар-

коидоз, а также при лимфомах может наблюдаться повышение уровня кальция крови. Активированные макрофаги продуцируют КТ, который способствует усиленному всасыванию поступающего с пищей Са. Гиперкальциурия встречается чаще, чем гиперкальциемия.

2. Усиленная абсорбция Са из костей наблюдается при первичном, вторичном гиперпаратиреозе, злокачественных опухолях, тиреотоксикозе, болезни Педжета, интоксикации витамином А.

Первичный гиперпаратиреоз является наиболее частой причиной гиперкальциемии, он встречается с частотой 1 случай на 10 000 человек в общей популяции. Это состояние в 80% случаев вызвано солитарной аденомой ПЩЖ. У остальных пациентов выявляется диффузная гиперплазия или множественные аденомы. Примерно у половины в последней группе имеет место наследственный синдром: множественная эндокринная гиперплазия (МЭН) I типа, ассоциированная с аденомой гипофиза и островковых клеток поджелудочной железы или МЭН II типа, ассоциированная с медулярным раком щитовидной железы и феохромоцитомой. Множественные аденомы встречаются нечасто, а карцинома ПЩЖ составляет менее 1%. Гиперкальциемия у этих пациентов обусловлена повышенной резорбцией Са из костей, увеличенной абсорбцией Са в тонкой кишке за счет более значительного образования КТ и повышенной реабсорбцией Са в дистальных почечных канальцах. При первичном гиперпаратиреозе гиперкальциемия выражена незначительно при отсутствии симптоматики и обычно выявляется у амбулаторных пациентов при рутинных биохимических исследованиях. Обычно пациенты заболевают в возрасте 40–60 лет, причем женщины в 2–3 раза чаще мужчин, 2/3 составляют женщины в постменопаузальном периоде.

Вторичный гиперпаратиреоз приводит к гиперкальциемии у пациентов с хронической болезнью почек (ХБП) V стадии обычно после трансплантации почки, когда нормализуются уровни Р крови, ВД, улучшается функция почек, но секреция ПТГ остается высокой вследствие увеличенной массы ПЩЖ. У большинства пациентов гиперкальциемия разрешается в течение первого года после трансплантации.

Злокачественные опухоли являются 2-й по частоте причиной гиперкальциемии. Несколько механизмов ответственны за это состояние: избыточная продукция ПТГ-подобного пептида (ПТГ-ПП) [7], избыточная резорбция кости вокруг опухолевой инфильтрации и избыточная продукция КТ (например при лимфомах). Наиболее часто это состо-

яние наблюдается у пациентов с плоскоклеточным раком легких, раком молочной железы, миеломной болезнью, раком почки. Гиперкальциемия у пациентов с онкологическими заболеваниями называется опухолевой гиперкальциемией [8]. Она обычно тяжелая, с уровнем Са сыворотки крови более 3,5 ммоль/л, и у пациентов имеются явные симптомы опухоли. ПТГ-ПП не выявляется с помощью стандартных методов определения ПТГ, но есть специальные наборы для его определения. Гиперкальциемия наблюдается у пациентов с запущенным раком, причем средняя выживаемость на момент выявления гиперкальциемии составляет всего около трех месяцев.

Миеломная болезнь сопровождается гиперкальциемией и локализованными остеолитическими очагами в скелете. Приблизительно у 30% пациентов с миеломой в течение болезни развивается гиперкальциемия. Очаги деструкции обусловлены остеокластической резорбцией костей без признаков образования новой кости в отличие от метастатического поражения при раке молочной железы и простаты.

При тиреотоксикозе у 10–20% пациентов может наблюдаться гиперкальциемия в результате ускоренного ремоделирования костей. Иммобилизация и болезнь Педжета также могут вызывать гиперкальциемия. Редкие причины гиперкальциемии: при лечении препаратами лития (легкая гиперкальциемия за счет взаимодействия препарата с КЧР), при использовании тиазидовых диуретиков (необходимо заподозрить скрытый первичный гиперпаратиреоз), при феохромоцитоме, первичной недостаточности надпочечников и при редком генетическом заболевании – семейной гипокальциурической гиперкальциемии (СГГ). Это аутосомно-доминантное заболевание обусловлено мутацией КЧР с пониженной их чувствительностью к Са сыворотки крови. В результате наблюдаются незначительная гиперкальциемия с раннего возраста и гиперкальциурия при нормальном или слегка повышенном уровне ПТГ без клиники гиперкальциемии. Об этом редком заболевании следует помнить и проводить дифференциальную диагностику с первичным гиперпаратиреозом, чтобы избежать неоправданного оперативного лечения.

Симптомы гиперкальциемии отмечаются при значительном повышении Са крови и представлены проявлениями со стороны нервной системы (от легкого изменения ментального статуса до комы, мышечной слабостью, миопатиями). Со стороны сердечно-сосудистой системы могут наблюдаться желудочковые аритмии, полная атриовентрикулярная блокада, артериальная гипертензия, разви-

тие интоксикации сердечными гликозидами, укорочение интервала Q–T на ЭКГ. Расстройства желудочно-кишечного тракта выражаются в запорах, анорексии, тошноте и рвоте. Боли в животе могут быть результатом вызванной гиперкальциемией пептической язвы или панкреатита. Гиперкальциемия может приводить к нарушению концентрационной способности почек, к полиурии, вторичной полидипсии, что обуславливает уменьшение объема ВКЖ, снижение СКФ вследствие острого повреждения почек или хронической почечной недостаточности. Могут также развиваться нефролитиаз и нефрокальциноз.

Диагноз. Наиболее частыми причинами гиперкальциемии являются первичный гиперпаратиреоз [9] и злокачественные новообразования, составляющие в сумме 90% случаев. Вначале следует определить содержание Са, Р, креатинина, хлорида, бикарбоната сыворотки крови и суточную экскрецию Са с мочой. Высокий уровень хлорида крови и низкая концентрация Р в соотношении более 33/1 (в мг/дл) позволяют склониться в пользу первичного гиперпаратиреоза, так как высокий ПТГ крови подавляет канальцевую реабсорбцию Р. Низкая концентрация хлорида, высокий уровень бикарбоната сыворотки, повышение уровня креатинина сыворотки предполагают молочно-щелочной синдром. Наличие моноклонального градиента белков сыворотки помогает в диагностике миеломной болезни или болезни легких цепей. Низкий уровень Р сыворотки наблюдается при первичном гиперпаратиреозе и СГГ. Суточная экскреция Са снижена при молочно-щелочном синдроме, первичном гиперпаратиреозе, использовании тиазидовых диуретиков и СГГ.

Общее правило состоит в том, что первичный гиперпаратиреоз наблюдается у асимптоматических амбулаторных пациентов при уровне Са крови не более 2,75 ммоль/л, в то время как при злокачественных процессах имеются симптомы гиперкальциемии с острым началом и концентрацией Са сыворотки более 3,5 ммоль/л.

Исследование интактного ПТГ проводится после описанного выше начального обследования. Наиболее частой причиной повышения уровня ПТГ является первичный гиперпаратиреоз, хотя его повышение возможно при лечении литием и СГГ. Иногда при первичном гиперпаратиреозе концентрация ПТГ будет в нормальных пределах относительно уровня повышения Са крови.

При отсутствии данных за онкологическое заболевание и при нормальном уровне ПТГ надо исключить интоксикацию ВД или гранулематозное заболевание, что требует определения concentra-

ций кальцидиола и кальцитриола плазмы. Повышение уровня первого наблюдается при интоксикации витамином D. Повышение концентрации КТ крови бывает при передозировке этого препарата, гранулематозной болезни, лимфоме и при первичном гиперпаратиреозе.

При повышении концентрации КТ без явной причины для выявления гранулематозного заболевания может быть использован тест с гидрокортизоном. Если после назначения 40 мг этого препарата каждые 8 ч в течение 10 дней гиперкальциемия разрешится, то она является признаком гранулематозного заболевания.

Лечение гиперкальциемии зависит от ее выраженности и направлено на повышение экскреции Са с мочой, торможение резорбции Са из костей и снижение интестинального всасывания Са.

1. Повышение экскреции Са с мочой достигается путем увеличения объема ВКЖ с последующим назначением диуретиков. Реабсорбция Са в проксимальных почечных канальцах является пассивным процессом, идущим параллельно с реабсорбцией натрия. Уменьшение объема ВКЖ за счет подавления секреции антидиуретического гормона приводит к повышению реабсорбции натрия и соответственно Са. Пациенты с гиперкальциемией часто имеют сниженный объем ВКЖ. Гиперкальциемия подавляет реабсорбцию натрия в толстом восходящем отделе петли Генле путем активации КЧР и также препятствует действию антидиуретического гормона. При снижении СКФ могут потребоваться высокие дозы петлевых диуретиков. При резком снижении почечной функции может быть необходим гемодиализ. В случае умеренной гиперкальциемии достаточно проведения регидратации с введением 2–4 л 0,9% NaCl и последующего применения петлевых диуретиков (20–160 мг внутривенно каждые 8 ч).

2. Препараты, снижающие резорбцию костей, часто необходимы при умеренной или тяжелой гиперкальциемии. В острой ситуации обычно эффективен кальцитонин в дозе 4 МЕ/кг 2 раза в день из-за быстрого начала действия (через 2–4 ч). Кальцитонин ингибирует остеокластическую резорбцию и повышает почечную экскрецию Са. Он снижает концентрацию Са сыворотки только на 1–2 мг/дл (0,25–0,5 ммоль/л). Кроме того, при повторном применении препарата развивается тахифилаксия. По этим причинам кальцитонин не следует использовать как единственный препарат для подавления костной резорбции.

Бисфосфонаты являются препаратами выбора для лечения гиперкальциемии, вызванной костной резорбцией [10]. Эти аналоги неорганического пи-

рофосфата избирательно концентрируются в костях, из-за высокого сродства с их минеральным компонентом. Они оказывают комплексное тормозящее действие на костный метаболизм за счет подавления резорбционной активности остеокластов и ускорения их апоптоза, снижения активности формирования новой кости. Начинают действовать бисфосфонаты только через 2–3 дня, но оказывают длительный эффект (несколько недель). Первым препаратом для лечения гиперкальциемии был использован этидронат. Са сыворотки при его использовании начинает падать на 2-й день лечения, достигая максимума на 7-й день. Гипокальциемический эффект продолжается несколько недель. При быстром падении Са сыворотки в течение 48 ч следует отменить препарат для предотвращения гипокальциемии. Этидронат можно вводить внутривенно в дозе 7,5 мг/кг в течение 4 ч 3 дня. Однократное в/в введение в дозе 30 мг/кг в виде 24-часовой инфузии на 1 л физиологического раствора также эффективно. Памидронат является более эффективным препаратом по сравнению с этидронатом и широко используется в лечении гиперкальциемии. Его вводят в дозе 60 или 90 мг в/в в течение 4 ч. Если концентрация Са сыворотки равна или меньше 13,5 мг/дл (3,38 ммоль/л), назначают 60 мг, если выше 3,38 ммоль/л – вводят 90 мг. Уровень Са сыворотки постепенно снижается в течение 2–4 дней. Однократная доза дает эффект в течение 1–2 нед. У большинства пациентов концентрация Са сыворотки нормализуется после 7 дней. Дозы этидроната и памидроната должны назначаться с учетом почечной функции. Используют также препараты: клодроновая кислота (бонефос), ибандроновая кислота (бондронат), цоледронат (зомета).

Пликамицин (митрамицин) можно использовать только у больных без тяжелых нарушений печеночной, почечной функции и кроветворения в дозе 25 мкг/кг в/в в виде 4-часовой инфузии 1 раз в день в течение 3–4 дней. Эффект начинается через 12 часов и достигает максимума через 48 ч. Введение повторяют каждые 3–7 дней. Побочные эффекты (тошноты, гепатотоксичность, протеинурия, тромбоцитопения) ограничивают применение препарата.

Нитрат галлия ингибирует резорбцию костей и может использоваться как дополнительное средство лечения гиперкальциемии при онкологической патологии при неэффективности других препаратов. Механизм действия неясен. Препарат назначают в виде внутривенной инфузии в дозе 100–200 мг/м² в течение 5 дней. Препарат нельзя использовать у пациентов с повышенным уровнем креатинина сыворотки (более 0,22 ммоль/л).

При гиперкальциемии оправдано применение кальцимиметика цинакальцета (Сенсипар® – США, Австралия; Мимпара® – Европа). Цинакальцет непосредственно снижает уровень ПТГ за счет повышения чувствительности КЧР главных клеток ПЩЖ к экстрацеллюлярному кальцию. Подавление секреции ПТГ приводит к соответствующему снижению концентрации кальция в сыворотке крови. Рекомендуемая начальная доза при карциноме ПЩЖ препарата составляет 30 мг 2 раза/сут. Коррекцию дозы следует проводить каждые 2–4 нед в следующей последовательности изменений дозировки: 30 мг 2 раза/сут., 60 мг 2 раза/сут, 90 мг 2 раза/сут и 90 мг 3–4 раза/сут по мере необходимости для снижения концентрации кальция в сыворотке крови.

3. Терапия, направленная на снижение кишечной реабсорбции Са, используется у амбулаторных пациентов с легкой гиперкальциемией. Кортикостероиды (гидрокортизон 200–300 мг в/в в день в течение 3–5 дней) могут быть эффективными при интоксикации витамином D, при гранулематозных болезнях и некоторых видах опухолей (лимфома, миелома), так как подавляют синтез КТ. Альтернативными средствами являются кетоконазол и гидроксихлорохин (плаквенил). Можно назначить препараты, содержащие фосфат, перорально при отсутствии гиперфосфатемии или снижения СКФ. Пероральные препараты Р могут вызывать диарею и снижают уровень Са сыворотки только на 1 мг/дл (0,25 ммоль/л).

4. Хирургическое лечение по поводу солитарной аденомы ПЩЖ показано при превышении Са сыворотки более чем на 1 мг/дл (0,25 ммоль/л) верхней границы нормы, при наличии явных признаков поражения костей, при снижении минеральной плотности кортикальных костей более чем на 2 стандартных отклонения от нормальных значений с учетом возраста, пола и расы (по Z-критерию), при снижении СКФ более чем на 30%, наличии нефролитиаза или нефрокальциноза, суточной экскреции Са, превышающей 400 мг/день, и при наличии эпизодов острой симптоматической гиперкальциемии. Около 50% пациентов нуждаются в хирургическом лечении в соответствии с этими критериями. Определяют наличие аденомы с помощью сонографии и при сканировании ПЩЖ с ^{99m}Tc MIBI).

Гипокальциемия

Этиология. Истинная гипокальциемия является результатом сниженной абсорбции Са в кишечнике или уменьшенной резорбции Са из костей. Принимая во внимание, что 98% Са находят-

ся в костях, длительная гипокальциемия невозможна без снижения эффекта действия ПТГ или КТ на скелет [1].

Общий Са плазмы состоит из трех компонентов: ионизированный (50%), находящийся в комплексных связях (10%) и связанный с белком (40%). Истинная гипокальциемия возможна только при снижении ионизированного Са (нормальные значения 1,05–1,25 ммоль/л). Вместо определения ионизированного Са обычно ориентируются на скорректированный на альбумин Са сыворотки, который рассчитывают по формуле: Са корр. (ммоль/л) = Са сыворотки + [(40 – альбумин в г/л) × 0,02]. На связывание Са с белком влияет рН ВКЖ. Ацидемия повышает, а алкалемия понижает концентрацию ионизированного Са.

Истинная гипокальциемия обусловлена сниженной секрецией ПТГ, резистентностью органов к ПТГ или нарушениями метаболизма ВД. Иногда гипокальциемия развивается внезапно вследствие внутрисосудистого связывания Са.

1. Гипопаратиреоз развивается при многих приобретенных и наследственных заболеваниях, обусловленных нарушенным синтезом и выделением ПТГ или резистентностью периферических тканей к ПТГ.

Наиболее частой причиной идиопатического гипопаратиреоза является полигландулярный аутоиммунный синдром I типа, характеризующийся хроническим кандидозом кожи и слизистых оболочек и первичной надпочечниковой недостаточностью. Иногда также наблюдаются пернициозная анемия, сахарный диабет, витилиго и аутоиммунный тиреоидит. Кандидоз кожи и слизистых оболочек обычно диагностируют в раннем детстве, гипопаратиреоз развивается несколько лет спустя, а надпочечниковая недостаточность выявляется в юношеском возрасте. Семейная гипокальциемия обусловлена мутацией КЧР, увеличивающей его чувствительность к Са.

Хирургическое удаление ткани ПЩЖ по поводу вторичного гиперпаратиреоза часто приводит к транзиторному гипопаратиреозу, но может осложняться тяжелой гипокальциемией вследствие реминерализации костей, так называемого «синдрома голодной кости».

Оперативное лечение заболеваний щитовидной железы в 5% случаев ведет к гипокальциемии, причем примерно у 0,5% этих пациентов она становится постоянной. Факторами риска развития этого состояния являются удаление трех ПЩЖ и более, послеоперационная концентрация ПТГ менее 12 пг/мл, уровень общего Са сыворотки крови равный или меньше 2,0 ммоль/л через неделю после

начала пероральной заместительной терапии Са и концентрация Р сыворотки крови не выше 1,29 ммоль/л.

Заболевания с инфильтративными изменениями (гемохроматоз, болезнь Вильсона, ВИЧ-инфекция) также могут сопровождаться гипопаратиреозом.

Тяжелая гипомагнезиемия является наиболее частой причиной гипопаратиреоза. Дефицит магния приводит к развитию резистентности к ПТГ органов-мишеней и снижению секреции ПТГ. В этой ситуации лечение гипокальциемии препаратами Са и ВД неэффективно до устранения дефицита магния.

2. Генетические заболевания, вызывающие резистентность органов-мишеней к ПТГ (псевдогипопаратиреоз). Полагают, что в его основе лежит генетически обусловленная резистентность почек и скелета к действию паратгормона в результате дефекта комплекса специфический циторецептор – паратгормон – аденилатциклаза, что нарушает процесс образования в почках циклического 3', 5'-АМФ, являющегося внутриклеточным посредником действия паратгормона на метаболические процессы. У части больных есть дефект самого циторецептора, связывающего паратгормон (тип Ia псевдогипопаратиреоза), у других – отмечается дефект нуклеотидсвязывающего белка, локализованного в липидном бислое клеточной мембраны и функционально связывающего рецептор с аденилатциклазой (тип Ib псевдогипопаратиреоза). У некоторых больных наблюдается ферментативная недостаточность самой аденилатциклазы (псевдогипопаратиреоз II типа). Дефицит цАМФ вследствие этих дефектов ведет к нарушению синтеза специфических белков, определяющих биологический эффект паратгормона.

3. Нарушение метаболизма витамина D. Причиной являются: сниженное потребление ВД, мальабсорбция, медикаменты, болезни печени, почек и витамин D-зависимый рахит. Дефицит ВД может встречаться у плохо питающихся лиц, при недостаточном пребывании на солнце. Так как ВД является жирорастворимым, его дефицит может наблюдаться при синдроме мальабсорбции. Противосудорожные препараты способствуют развитию дефицита ВД, причем механизм их действия неясен. Фенобарбитал усиливает метаболизм ВД и КТ. Снижение КТ сыворотки при ХБП обусловлено нарушением 1α-гидроксилирования КД в проксимальных канальцах почек. Витамин-D-зависимый рахит связан с генетически обусловленным нарушением синтеза в почках КТ с аутосомно-рецессивным типом наследования (тип I) либо с резистентностью органов-мишеней к КТ (тип II). Больные с I типом отвечают на физиологические

дозы КТ. У пациентов II типа значительно повышен уровень КТ сыворотки крови, лечение КТ не дает эффекта вследствие мутации рецепторов витамина D.

4. Редкие причины гипокальциемии включают синдром лизиса опухоли, остеобластические метастазы, острый панкреатит, токсический шок и сепсис. Внезапное поступление фосфата во ВКЖ может вызвать гипокальциемию с помощью различных механизмов. Са и Р могут преципитировать в тканях. Кроме того, инфузии Р повышают скорость формирования кости и ингибируют индуцированную ПТГ резорбцию костей, что приводит к снижению концентрации Са.

Симптомы гипокальциемии зависят не только от выраженности гипокальциемии, но и от скорости ее развития. Порог, при котором появляются симптомы гипокальциемии, зависит от уровня pH сыворотки, наличия сопутствующей гипомagneзмии, гипокалиемии, гипонатриемии. В клинической картине преобладают симптомы повышенной нервно-мышечной возбудимости. Больные могут жаловаться на парестезии, локализованные вокруг рта, в дистальных отделах конечностей или карпопедальный спазм. Симптомы со стороны ЦНС включают нарушение ментального статуса, раздражительность и судороги. При физикальном обследовании может определяться гипотония, брадикардия, спазм гортани, бронхоспазм. Следует определить симптомы Хвостека и Труссо. Симптом Хвостека – сокращение лицевых мышц, вызываемое при перкуссии над лицевым нервом ниже скуловой кости, причем во время обследования рот пациента должен быть приоткрыт. Следует отметить, что симптом Хвостека встречается у 10–25% здоровых людей и отсутствует у 30% пациентов с гипокальциемией. Симптом Труссо – флексия в лучезапястном суставе, пястно-фаланговых суставах, гиперэкстензия межфаланговых суставов, флексия I пальца после наложения манжеты и поддержания в ней давления на 20 мм рт. ст. выше систолического в течение 3 мин. Эктодермальные проявления гипокальциемии включают алопецию, катаракту, дерматиты, кандидомикозы, повышенную ломкость ногтей. Со стороны сердечно-сосудистой системы могут наблюдаться: удлинение интервала Q–T на ЭКГ, желудочковые аритмии, застойная сердечная недостаточность, гипотония, снижение чувствительности к сердечным гликозидам, фибрилляция желудочков и остановка сердца. Могут также присутствовать психические расстройства: деменция, психозы, расстройства мышления, аффективные расстройства, депрессия, галлюцинации.

Диагноз. 1-й шаг диагностики у пациента со сниженным уровнем общего Са состоит в определении альбумина сыворотки, скорректированного Са сыворотки и, при необходимости, уровня ионизированного Са. При истинной гипокальциемии следует определить концентрации креатинина, магния, Р, суточную экскрецию Са и Р с мочой.

2-й шаг – определение концентрации магния сыворотки (норма 0,65–1,10 ммоль/л). Гипомagneзиемия – наиболее частая причина гипокальциемии у госпитализированных пациентов. Настороженность должны вызывать наличие у пациентов стеатореи, диареи, хронического алкоголизма. У этих пациентов обычно присутствует тяжелая гипомagneзиемия, и гипокальциемия не разрешится до тех пор, пока не будет восполнен дефицит магния. Часто требуется несколько дней для коррекции Са после восполнения дефицита магния.

3-й шаг – определение концентраций Р в сыворотке и моче. Гиперфосфатемия при отсутствии почечной недостаточности позволяет предполагать либо истинный гипопаратиреоз (при этом уровень ПТГ сыворотки снижен), либо псевдогипопаратиреоз (уровень ПТГ повышен). Снижение Р сыворотки указывает на нарушение метаболизма ВД. Следует определить в сыворотке уровни кальцидиола и кальцитриола. Снижение концентрации КД наблюдается при недостаточной инсоляции, синдроме мальабсорбции, болезнях печени, лечении фенобарбиталом. Снижение КТ при нормальном уровне КД присутствует при ХБП и при витамин D-зависимом рахите I типа (недостаточность фермента 1 α -гидроксилазы). Повышение КТ при низком уровне Р крови встречается при витамин D-зависимом рахите II типа (патология рецепторов витамина D).

Лечение зависит от тяжести гипокальциемии и ее причины. В неотложной ситуации, когда подозревается гипокальциемия и присутствуют судороги, тетания, гипотензия или сердечные аритмии, до получения результатов лабораторного исследования внутривенно назначают 100–300 мг Са (10–30 мл 10% глюконата Са) в течение 10–15 мин. Пациентам с симптоматической гипокальциемией и уровнем скорректированного на альбумин Са сыворотки, равным или меньшим 7,5 мг/дл (1,86 ммоль/л), следует назначить Са парентерально. Хроническую легкую гипокальциемию у амбулаторных пациентов можно лечить пероральными препаратами Са с добавлением витамина D при необходимости.

Острая симптоматическая гипокальциемия требует назначения препаратов Са внутривенно [11]. При отсутствии судорог, тетании, сердечных

аритмий достаточно инфузии 15 мг/кг элементарного Са в течение 4–6 ч с повышением общего Са сыворотки на 2–3 мг/дл (0,5–0,75 ммоль/л). Глюконат Са (10%) в 10 мл ампулах содержит 94 мг элементарного Са. Первую ампулу можно ввести за несколько минут с последующей постоянной инфузией сначала со скоростью от 0,5–1 мг/кг/ч и затем под контролем уровня Са сыворотки. Вводят в/в 100 мл 10% раствора глюконата кальция на 900 мл 5% раствора глюкозы со скоростью 50 мл/ч (у мужчин с массой тела более 70 кг в начале можно несколько быстрее), продолжительность инфузии составляет от 8 до 18 часов (при необходимости всю дозу можно ввести быстрее – за 4–6 ч).

Кальция глюцептат (10%) содержит 90 мг элементарного Са в ампуле 5 мл. Хлорид Са имеет более высокую биодоступность и содержит 272 мг элементарного Са в ампуле 10 мл. Лечение гипокальциемии неэффективно в присутствии гипомagneмиемии. При наличии метаболического ацидоза гипокальциемию надо скорректировать до начала лечения ацидоза.

При сочетании гипокальциемии с гипомagneмией, алкоголизмом, мальабсорбцией, почечными потерями магния или при наличии необъяснимой гипокальциемии нужно дополнительно ввести 5–10 мл 25% раствора $MgSO_4$ в/в болюсом в течение 5–10 мин и далее по 5–10 мл 25% раствора $MgSO_4$ в/м каждые 4 ч или в виде в/в инфузии 0,5 ммоль Mg/кг массы тела в сутки (доза $MgSO_4$ разводится в 1 л изотонического р-ра NaCl). Надо учитывать, что 1 мл 25% раствора $MgSO_4$ содержит 1 ммоль Mg. Введение солей магния противопоказано при значительном снижении СКФ. Нельзя смешивать растворы солей кальция и магния. При сочетании гипокальциемии с ацидозом сначала устраняется гипокальциемия, затем ацидоз, причем нельзя смешивать растворы солей кальция и бикарбоната натрия. При сочетании гипокальциемии с применением сердечных гликозидов вводить последние необходимо только под мониторным контролем ЭКГ. При сочетании гипокальциемии с гиперфосфатемией целесообразно назначение фосфор-связывающих препаратов.

Длительная терапия гипокальциемии показана при уровне скорректированного Са сыворотки ниже 2,1 ммоль/л. Назначают соли Са перорально из расчета 1–2 г элементарного Са в сутки. Содержание элементарного Са составляет в карбонате 40%, хлориде – 30%, лактате – 12%, глюконате – 8%.

Пациентов с гипопаратиреозом лечат препаратами Са и витамином D [12]. Концентрацию Са сыворотки крови следует поддерживать на нижней границе нормы. Пероральный элементарный Са

1–3 г в день обычно эффективен. Са лучше всасывается при его назначении между приемами пищи. Цитрат Са лучше растворим по сравнению с карбонатом, особенно у пациентов, принимающих ингибиторы протонной помпы. В присутствии гиперфосфатемии назначение Са следует задержать по возможности до снижения уровня Р сыворотки ниже 6 мг/дл (1,95 ммоль/л) с помощью фосфат-связывающих препаратов. Тяжелую гипокальциемию, однако, следует срочно корректировать, несмотря на гиперфосфатемию.

КТ является наиболее эффективным витамином D и имеет самый быстрый эффект и самое короткое действие, является самым дорогим. В день обычно требуется 0,5–1,0 мкг. В ряду кальцидиола, холекальциферола и эргокальциферола стоимость снижается, и длительность действия нарастает. При заболеваниях почек и печени эффект этих препаратов снижается. При гипопаратиреозе снижается реабсорбция Са в дистальных канальцах. Поэтому повышенное поступление Са может привести к гиперкальциурии, нефролитиазу и нефрокальцинозу. Если экскреция Са с мочой превышает 350 мг в день, следует сократить прием Са, даже несмотря на его низкую концентрацию в сыворотке, также следует ограничить прием натрия и добавить тиазидовые диуретики.

Гиперфосфатемия

Этиология.

1. Почечная недостаточность является причиной гиперфосфатемии в 90% случаев. При снижении СКФ возрастает экскретируемая фракция (ЭФ) Р. Когда СКФ падает ниже 30 мл/мин реабсорбция Р максимально подавлена, и ЭФ не может повышаться больше. В результате повышается сывороточная концентрация Р.

2. Внезапное массивное поступление Р может приводить к повышению Р крови. Р может поступать либо из внутриклеточного пространства, что наблюдается при синдроме лизиса опухоли, рабдомиолизе и при повышенной абсорбции в кишечнике в случае интоксикации ВД. Синдром лизиса опухоли наиболее часто наблюдается при лечении быстро растущих злокачественных опухолей (лейкозы, лимфомы). Он также может встречаться после лечения таких солидных опухолей, как мелкоклеточная карцинома, рак молочной железы, нейробластома. Факторами риска развития синдрома являются: нарушение функции почек, повышенный уровень лактатдегидрогеназы и гиперурикемия. Последние два показателя свидетельствуют о большом объеме опухоли.

3. Первичное повышение тубулярной реабсорб-

ции Р встречается реже и может наблюдаться при гипопаратиреозе, при акромегалии вследствие прямой стимуляции инсулиноподобным фактором роста фосфатного транспорта, при лечении бисфосфонатами за счет прямого влияния препаратов на реабсорбцию Р и при туморальном кальцинозе. Последний вызван патологией проксимального канальца, ведущего к повышению реабсорбции Р.

Симптомы острого повышения Р крови обусловлены сопутствующей гипокальциемией, вызванной отложением Са в мягких тканях и падением уровня ионизированного Са внеклеточной жидкости. Гиперфосфатемия также может вызвать гипокальциемию за счет снижения активности 1α -гидроксилазы и уменьшения образования КТ.

Диагноз. Клинически необъяснимая персистирующая гиперфосфатемия должна вызвать подозрение наличия псевдогиперфосфатемии, наиболее частой причиной которой является парапротеинемия, причем связи ложного обнаружения гиперфосфатемии с типом и подклассом иммуноглобулинов обнаружено не было. Выявление псевдогиперфосфатемии в этой ситуации является артефактом спектрофотометрического метода анализа, обусловленного влиянием парапротеинов. При отсутствии парапротеинемии гиперфосфатемия, как правило, обусловлена острой или хронической почечной недостаточностью.

Лечение гиперфосфатемии направлено на снижение абсорбции Р в кишечнике, что достигается применением фосфат-связывающих препаратов: карбоната Са, ацетата Са, севеламера гидрохлорида, лантанума карбоната, алюминия гидрохлорида. Эти препараты надо назначать во время приема пищи. Карбонат и ацетат Са назначают по 1–2 таблетки 3 раза в день во время еды (таблетки ацетата Са содержат 667 мг, карбоната – 0,5 г). Препараты противопоказаны при уровнях Са сыворотки выше 2,54 ммоль/л и/или ПТГ ниже рекомендуемых для данной стадии ХБП значений. Севеламер (ренагель) – катионный полимер, связывающий Р в кишечнике. Преимуществом препарата является отсутствие в его составе Са, поэтому препарат не вызывает гиперкальциемии у больных с ХБП. Назначают 1–2 капсулы, содержащих 800 мг севеламера в день во время еды. Лантана карбонат (Fosrenol) – новый препарат, по эффективности не уступает алюминий-содержащим фосфат-байндерам. Жевательные таблетки, содержащие 250–500 мг лантана, принимают после еды в суточной дозе 1500–3000 мг в день, начиная с 750 мг в день. Алюминия гидроокись используют только при неэффективности других препаратов и короткими курсами не более 3 нед. Препараты никотиновой

кислоты: никотинамид и никотиновая кислота медленного высвобождения ингибируют Na-Р котранспортеры и снижает всасывание Р в кишечнике. Назначают в дозе 500–1500 мг в день. Доказана эффективность препаратов двойным слепым рандомизированным методом [13]. Преимуществом являются низкая стоимость препарата, доступность, однократный прием, благоприятное влияние на липидный обмен (повышение уровня липопротеидов высокой плотности). Переносимость препаратов обычно удовлетворительная, но могут наблюдаться гиперемия, приливы, зуд, тошнота. Противопоказаниями являются: язвенная болезнь в стадии обострения, гиперчувствительность.

Гипофосфатемия

Этиология. Гипофосфатемия может быть следствием перераспределения Р из внеклеточного во внутриклеточное пространство, снижением кишечной абсорбции Р или почечной реабсорбции Р.

1. Переход Р из внеклеточного во внутриклеточное пространство наиболее часто обусловлен респираторным алкалозом и синдромом возобновления питания у госпитализированных пациентов [14]. Респираторный алкалоз вызывает повышение внутриклеточного рН, что стимулирует фосфофруктокиназу, являющуюся лимитирующим по скорости звеном гликолиза. Это ведет к тяжелой гипофосфатемии с уровнем Р сыворотки от 0,16 до 0,32 ммоль/л. Внутриклеточное перемещение Р также наблюдается при лечении диабетического кетоацидоза и синдроме «голодной кости», встречающемся после паратиреоидэктомии, выполненной по поводу вторичного гиперпаратиреоза. При этом в послеоперационном периоде значительно снижаются концентрации Са и Р сыворотки.

2. Снижение потребления Р редко приводит к гипофосфатемии, так как содержание Р в диете почти всегда превышает потери Р через ЖКТ, а почки могут реабсорбировать почти весь профильтрованный Р. Для развития гипофосфатемии сниженное поступление Р должно сочетаться с повышенной его потерей через ЖКТ (например при диарее) или с использованием фосфат-связывающих препаратов, уменьшающих всасывание Р в кишечнике.

3. Избыточная экскреция Р с мочой наблюдается при первичном гиперпаратиреозе, вторичном гиперпаратиреозе, вызванным нарушением метаболизма ВД, при синдроме Фанкони, осмотическом диурезе, применении ацетозоламида и при онкогенной остеомалации. Последняя представляет собой

редкое заболевание, связанное с мезенхимальными опухолями, характеризующееся гипофосфатемией, фосфатурией, сниженной концентрацией КТ, нормальным содержанием КД и остеомалацией. Может быть значительный временной промежуток между проявлениями синдрома гипофосфатемии и обнаружением опухоли. Опухоль продуцирует ФРФ23, снижающий тубулярную реабсорбцию Р и продукцию КТ, причем эти эффекты исчезают после удаления опухоли. Известно, что ФРФ23 присутствует в сыворотке у здоровых лиц и обладает фосфатурическим эффектом. В опытах *in vivo* было показано, что гормон индуцирует фосфатемию, снижает концентрацию КТ и приводит к остеомалации. Два наследственных заболевания, характеризующихся фосфатурией: аутосомно-доминантный гипофосфатемический рахит (АДГР) и гипофосфатемия, сцепленная с X-хромосомой (ГСХ), являются результатом нарушенного метаболизма ФРФ23 [15]. АДГР обусловлен миссенс-мутацией ФРФ23 (замена на участке структурного гена одной нуклеотидной пары другой), что вызывает изменение места протеолитической деградации гормона, приводящее к торможению его расщепления и инактивации. В опытах *in vitro* было показано, что биологическая активность ФРФ23 ограничена полной длиной ФРФ23, включающего 251 аминокислоту. Энзим, ответственный за инактивацию ФРФ23, пока не обнаружен. В одном исследовании было показано, что одна из поверхностных клеточных металлопротеиназ, Pheх, способна метаболизировать ФРФ23, но эти данные не были подтверждены. АДГР характеризуется гипофосфатемией, потерей фосфата почками, малым ростом пациентов и деформацией костей.

ГСХ характеризуется потерей фосфата почками, гипофосфатемией, замедлением роста, нарушенной кальцификацией хрящей и костей и резистентностью к лечению фосфатами и ВД. Инакционные мутации Pheх вызывают ГСФ [16]. Pheх является представителем семейства цинк-зависимых протеаз поверхности клеток, которые расщепляют мелкие пептиды, такие как эндотелин. Они экспрессируются преимущественно в хрящах, костях и зубах. Их физиологический субстрат еще не обнаружен. Хотя предполагалось, что Pheх расщепляет и инактивирует ФРФ23, значительный размер ФРФ23, состоящего из 251 аминокислоты, делает эту возможность менее вероятной.

Симптомы. Гипофосфатемия имеет разнообразные клинические последствия [17]. Так, было показано, что коррекция умеренной гипофосфатемии улучшает диафрагмальную функцию у пациентов с острой дыхательной недостаточностью.

Так, перевод пациента с искусственной вентиляции на самостоятельное дыхание при наличии тяжелой гипофосфатемии возможен только после восполнения дефицита Р. В опытах *in vitro* было продемонстрировано, что гипофосфатемия вызывает сдвиг кривой диссоциации кислорода влево. Нейромышечные симптомы гипофосфатемии включают парестезии, тремор, мышечную слабость, нарушение ментального статуса. Выраженная гипофосфатемия может приводить к хрупкости клеток, гемолизу, снижению хемотаксиса, фагоцитоза с повышением вероятности развития инфекций.

Диагноз. Определение ЭФ Р в суточной моче можно использовать для дифференциальной диагностики патофизиологических механизмов гипофосфатемии. Если почка адекватно реагирует на сниженное всасывание Р в кишечнике или переход Р в клетки, то ЭФ Р будет составлять менее 5%, а суточная экскреция – менее 100 мг. Если почечная патология является причиной гипофосфатемии, ЭФ Р будет более 5%, а суточная экскреция Р составит более 100 мг. В этом случае показано исследование мочи на глюкозу, определение ПТГ крови для исключения гиперпаратиреоза и определение КД и КТ.

Лечение показано при тяжелой гипофосфатемии [при уровне, меньшем или равном 1 мг/дл (0,32 ммоль/л)] или при наличии симптомов. Следует учитывать, что Р является преимущественно внутриклеточным ионом, поэтому концентрация Р сыворотки не является надежным критерием запасов Р в организме. Гипофосфатемия часто сочетается с потерей калия и магния. Восполнение дефицита Р следует проводить с крайней осторожностью у немногочисленных пациентов с почечной недостаточностью. Самым безопасным методом является пероральный прием по 1000 мг Р в день. Используют фосфат калия по 2 таблетки 3–4 раза в день (каждая таблетка содержит 114 мг фосфата и 3,68 ммоль калия), фосфат калия нейтральный по 2 таблетки 2–3 раза в день (в таблетке 250 мг фосфата, 12 ммоль Na и 2 ммоль K). Наиболее частым осложнением терапии является диарея. Можно использовать и другие фосфатсодержащие препараты (АТФ, рибоксин, фосфоколин, глицерофосфаты, фитин). Внутривенное введение чревато развитием гипокальциемии и гиперфосфатемии, и оно показано только у пациентов с тяжелой симптоматической гипофосфатемией. Следует использовать фосфат натрия, если уровень калия не ниже 4 ммоль/л. Необходимо тщательно мониторировать концентрации в сыворотке фосфора, Са, магния, калия и диурез. При повышении Р

сыворотки более 0,32 ммоль/л надо переходить на пероральный прием Р. Назначение доз, больших, чем 0,32 ммоль/кг, в течение 12 ч редко показано.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Reilly RF. The patient with disorders of serum calcium and phosphate. In: Schrier RW (ed). *Manual of nephrology*. Sixth ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005: 61-78
2. Ермоленко ВМ. Фосфорно-кальциевый обмен и почки. В: Тареева ИЕ, ред. *Нефрология: Руководство для врачей*. 2-е изд., перераб. и доп., Медицина, М., 2000; 62-75
3. Razzaque MS, St-Arnaud R, Taguchi T, Lanske B. FGF-23, vitamin D and calcification: the unholy triad. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20 (10): 2032-2035
4. Torres PU, Prie D, Beck L et al. Klotho gene, phosphocalcic metabolism, and survival in dialysis. *J Ren Nutr* 2009; 19 (1): 50-56
5. Stubbs J, Liu S, Quarles LD. Role of fibroblast growth factor 23 in phosphate homeostasis and pathogenesis of disordered mineral metabolism in chronic kidney disease. *Semin Dial* 2007; 20 (4): 302-308
6. Fiorino AS. Hypercalcemia and alkalosis due to the milk-alkali syndrome: a case report and review. *Yale J Biol Med* 1996; 69 (6): 517-523
7. Fiaschi-Taesch NM, Stewart AF. Minireview: parathyroid hormone-related protein as an intracrine factor – trafficking mechanisms and functional consequences. *Endocrinology* 2003; 144 (2): 407-411
8. Mundy GR, Guise TA. Hypercalcemia of malignancy. *Am J Med* 1997; 103 (2): 134-145
9. al Zahrani A, Levine MA. Primary hyperparathyroidism. *Lancet* 1997; 349 (9060): 1233-1238
10. Lourwood DL. The pharmacology and therapeutic utility of bisphosphonates. *Pharmacotherapy* 1998; 18 (4): 779-789
11. Reber PM, Heath H 3rd. Hypocalcemic emergencies. *Med Clin North Am* 1995; 79 (1): 93-106
12. Bushinsky DA, Monk RD. Electrolyte quintet: Calcium. *Lancet* 1998; 352 (9124): 306-311
13. Cheng SC, Young DO, Huang Y et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of niacinamide for reduction of phosphorus in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3(4): 1131-1138
14. Brooks MJ, Melnik G. The refeeding syndrome: an approach to understanding its complications and preventing its occurrence. *Pharmacotherapy* 1995; 15 (6): 713-726
15. Quarles LD. FGF23, PHEX, and MEPE regulation of phosphate homeostasis and skeletal mineralization. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 285 (1):E1-9
16. Econs MJ, Francis F. Positional cloning of the PEX gene: new insights into the pathophysiology of X-linked hypophosphatemic rickets. *Am J Physiol* 1997; 273 (4 Pt 2): F489-498
17. Bugg NC, Jones JA. Hypophosphataemia. Pathophysiology, effects and management on the intensive care unit. *Anaesthesia* 1998; 53 (9): 895-902

Поступила в редакцию 11.06.2009 г.

Принята в печать 02.03.2010 г.

© А.В.Смирнов, И.И.Трофименко, А.А.Шумилина, О.И.Иванов, В.Г.Сиповский, В.А.Титова, Р.В.Зверьков, 2010
УДК 616.153.962.4-008.61+616.13-002+616.36-002]-06:616.61-008.6

*А.В. Смирнов^{1,2}, И.И. Трофименко¹, А.А. Шумилина¹, О.И. Иванов¹,
В.Г. Сиповский², В.А. Титова², Р.В. Зверьков²*

БЫСТРОПРОГРЕССИРУЮЩИЙ НЕФРИТИЧЕСКИЙ СИНДРОМ У ПАЦИЕНТКИ С КРИОГЛОБУЛИНЕМИЧЕСКИМ ВАСКУЛИТОМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С

*A.V. Smirnov, I.I. Trofimenko, A.A. Shumilina, O.I. Ivanov, V.G. Sipovsky,
V.A. Titova, R.V. Zverkov*

RAPIDLY PROGRESSIVE NEPHRITIC SYNDROME IN PATIENTS WITH CRYOGLOBULINEMIC VASCULITIS ASSOCIATED WITH CHRONIC HEPATITIS C

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

Ключевые слова: криоглобулинемический васкулит, быстро прогрессирующий нефритический синдром, гломерулонефрит, гепатит С.

Key words: cryoglobulinemic vasculitis, rapidly progressive nephritic syndrome, glomerulonephritis, hepatitis C.

Криоглобулинемический васкулит (КГВ) является клиническим проявлением смешанной криоглобулинемии (СК), преимущественно II типа. Ведущая роль вируса гепатита С (ВГС), являющегося как гепатотропным, так и лимфотропным вирусом, в генезе смешанной криоглобулинемии в настоящее время не вызывает сомнения. Влияние ВГС на иммунную систему может происходить через различные вирусные белки, в том числе, через взаимодействие оболочечного белка ВГС-Е2 и антигена CD81, присутствующего как на гепатоцитах, так и на В-лимфоцитах, что приводит к постоянной выраженной поликлональной стимуляции В-клеточного звена и последующей специфической аутоантителенной продукции, включая криоглобулины [1]. Патогенетические механизмы развития различных видов криоглобулинемии, эпидемиология и варианты клинических проявлений КГВ подробно описаны в обзоре К. Ферри, опубликованном в этом номере журнала [1], однако особенности поражения почек при КГВ упоминаются в нем лишь вскользь.

Типичными клиническими проявлениями КГВ являются пальпируемая пурпура, слабость, артралгии. Системное поражение с вовлечением почек,

легких, нервной системы, желудочно-кишечного тракта встречается значительно реже, но может иметь фульминантное течение. Поражение почек отмечается у 20–25% с КГВ в дебюте заболевания и достигает 50–60% при длительном наблюдении [2]. У 20–30% пациентов поражение почек манифестирует острым нефритическим синдромом, у более чем половины – хроническим нефритическим синдромом, у 20% – основным клиническим проявлением является нефротический синдром. Быстро прогрессирующий нефритический синдром (БПНС) характеризует течение заболевания в редких случаях (не более 5%) [2–4].

Основная морфологическая форма поражения почек при ВГС-ассоциированной криоглобулинемии – мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит (МПГН) 1 типа, с наличием субэндотелиальных иммунных депозитов, имеющих классическую структуру криоглобулинов [3, 5]. В одной трети нефробиопсий отмечаются признаки васкулита сосудов мелкого и среднего калибра [6]. Развитие фибриноидного некроза сосудистой стенки, наряду с наличием массивных капиллярных тромбов, ассоциируется с клинической картиной БПНС [5, 7]. Присутствие как мононуклеарной, так и полиморфно-ядерной инфильтрации клубочка, аморфных, PAS-положительных, Конго-рот негативных депозитов на внутренней стороне гломерулярной

Трофименко И.И. 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д.17, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, кафедра пропедевтики внутренних болезней. Тел. (812)-2340165; факс. (812)-2349563; e-mail: it@nephrolog.ru

капиллярной стенки и иногда в просвете капилляров, скудность экстракапиллярной инфильтрации, несмотря на выраженность интракапиллярной, позволяют отличить пролиферативные изменения при криоглобулинемии от прочих форм пролиферативных гломерулонефритов. При иммунофлюоресцентной микроскопии обнаруживаются гранулярные отложения вдоль капиллярной стенки, в мезангии и внутри просвета капилляра C3, IgM и IgG, иммунологически сходные с циркулирующими иммуноглобулинами. При электронной микроскопии регистрируются внутрисосудистые и субэндотелиальные депозиты, которые могут иметь трубчатую или фибриллярную структуру, аналогичную иммуноглобулинам [2].

Нами наблюдалась пациентка с быстро прогрессирующим нефритическим синдромом при криоглобулинемическом васкулите, ассоциированным с хроническим вирусным гепатитом С.

Пациентка Т., 47 лет. В 2000 г. при случайном обследовании, при отсутствии каких-либо субъективных симптомов у пациентки выявлено выраженное повышение трансаминаз (цифр не помнит), в связи с чем верифицировано наличие хронического вирусного гепатита С, генотип 1b. Получила два коротких курса (по 1,5 нед) противовирусной терапии, назвать которую не может, по видимому, включавшую интерферон. При обследовании через 10 мес и затем при ежегодных обследованиях до 2005 г. трансаминазы были нормальные, антигемии не регистрировалось. С 2005 г. – вновь повышение трансаминаз. С середины 2006 г. стали регистрироваться эпизоды появления мелкой, до 2 мм, не возвышающейся над поверхностью кожи геморрагической сыпи на голенях, со спонтанным разрешением, без остаточной гиперпигментации, а также болей и опухания голеностопных суставов, длительностью до 3–4 сут, сопровождавшихся субфебрилитетом. Первоначально подобные эпизоды отмечались 1 раз в 6 мес, затем стали регистрироваться чаще 1 раз в 2 мес. Не обследовалась. С октября 2008 г. высыпания на конечностях и суставной синдром, субфебрилитет стали появляться несколько 1 раз в месяц, стала замечать увеличение массы тела, с ноября – появление явных отеков ног, рук, лица, постоянных головных болей и повышение артериального давления до 180–220/100–120 мм рт. ст. Отеки нарастали, появился отек передней брюшной стенки, одышка при нагрузке. При амбулаторном обследовании креатинин – 0,153 ммоль/л, мочевина – 12,6 ммоль/л, суточная протеинурия (СПБ) – 4,14 г/сут. С середины января 2009 сыпь на конечностях стала постоянной. В начале февраля 2009 года пациентка госпитализирована на нефрологическое отделение клиники пропедевтики внутренних болезней СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. При поступлении – субфебрилитет, выраженные отеки ног, передней брюшной стенки, двусторонний гидроторакс, пальпируемая пурпура на стопах и голенях, АД – 180/100 мм рт. ст., рецидивирующие носовые кровотечения.

Учитывая развитие у пациентки более чем через 5 лет от выявления вирусного гепатита С рецидивирую-

щего кожного васкулита, суставного синдрома и последующее присоединение поражения почек позволило заподозрить наличие криоглобулинемического васкулита. При обследовании уровень криокрита составил 90%, выявлено наличие высокой виремии: ПЦР ВГС вирусная нагрузка – $7,2 \times 10^6$ МЕ/мл, ВГС анти-core-YgG – положительные, ВГС анти-NS3 -YgG – 3,431, анти NS4-YgG – 0,217 (положительные). Тесты на гепатит В были отрицательные. Кроме того, выявлены анемия, тромбоцитопения, азотемия, нефротический синдром: при лабораторном обследовании (при поступлении и через 10 дней) – гемоглобин (Hb) – 75–59 г/л, Eг – $2,4 \times 10^{12}$ /л, Leu – $7,0 \times 10^9$ /л, Tr – 99×10^9 /л, СОЭ – 55 мм/ч, креатинин крови (Cr) – 0,19 – 0,313 ммоль/л, клиренс Cr – 37 мл/мин, мочевина (Ur) – 12,9–20,5 ммоль/л, общий белок – 46 г/л, альбумин – 21 г/л, СПБ – 4,32 г. Отмечался нормальный уровень трансаминаз (АЛТ – 29 Е/л, АСТ – 40 Е/л), признаков холестаза не было (билирубин общий – 11,7 мкмоль/л, билирубин прямой – 1,7 мкмоль/л, щелочная фосфатаза – 83 Е/л, холестерин – 3,17 ммоль/л). В общем анализе мочи: белок – 3,8 г/л, Eг – 140–150 в п/зр, Leu – 4–6 в п/зр., определялись все виды белковых и эритроцитарные цилиндры. При ультразвуковом исследовании: размеры почек – 11,0×4,3 см и 11,7×4,7 см, паренхима – 1,6–1,0 см и 1,6–1,1 см для правой и левой почек соответственно, эхогенность повышена (II ст.), пирамиды овальные, нарушения оттока не выявлено. Печень не увеличена, с выраженными диффузными изменениями структуры, воротная вена не расширена. Селезенка не увеличена.

По результатам обследования верифицировано наличие криоглобулинемии, ассоциированной с хроническим вирусным гепатитом С с развитием криоглобулинемического васкулита с поражением кожи, суставов и почек. Патология почек представлена нефротическим и нефритическим синдромами с нарастающей с декабря 2008 г. азотемией, что, при наличии больших размеров почек, позволило диагностировать быстро прогрессирующий нефритический синдром, была экстренно произведена нефробиопсия.

Данные патоморфологического исследования нефробиоптата: световая микроскопия. В срезах корковый слой с числом клубочков до 18, полностью склерозированных – 3. Клубочки увеличены в размерах. Отмечается «лобулярный» рисунок капилляров клубочков. В клубочках визуализируются значительное увеличение мезангиального матрикса и выраженная гиперклеточность за счет пролиферации эндотелиоцитов капилляров и клеток мезангии. Базальные мембраны капилляров клубочков утолщены неравномерно, отмечаются сегментарные участки удвоения и расщепления базальных мембран. Фуксинофильные отложения выявляются в мезангии и вдоль базальных мембран капилляров клубочков. Кроме того, в клубочках отмечается выраженная лейкоцитарная реакция. Лейкоциты – преимущественно полиморфно-ядерные и макрофаги – располагаются в просвете капиллярных петель, непосредственно контактируя с прилежащими эндотелиоцитами. В просвете отдельных капиллярных петель отмечаются гиалиноподобные гомогенные, эозинофильные, PAS позитивные «тромбы» (рис. 1). Аналогичные по характеристикам гиалиноподобные массы располагаются в просвете отдельных канальцев. В просвете капсулы Шумлянского–Боумана, а также канальцев выявляются единичные эритроциты.

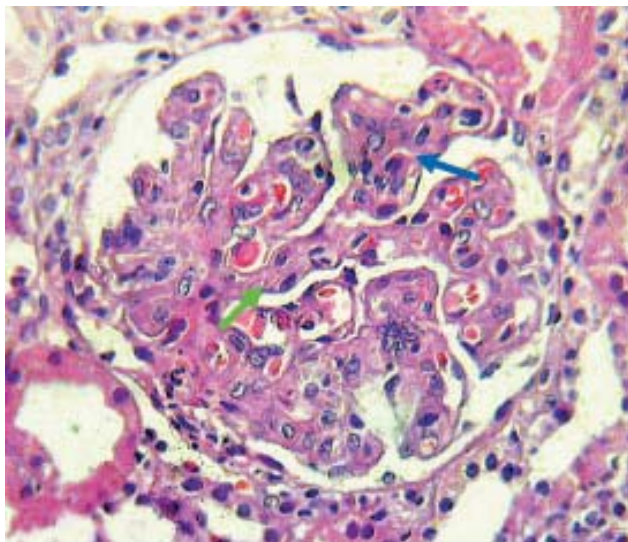


Рис. 1. Микроскопически выявляется «лобулярный» рисунок капилляров. В клубочках визуализируются значительное увеличение мезангиального матрикса и гиперклеточность, выраженная за счет пролиферации эндотелиоцитов капилляров и клеток мезангия – синяя стрелка. Базальные мембраны капилляров клубочков утолщены неравномерно. В просвете отдельных капиллярных петель отмечаются гиалиноподобные гомогенные, эозинофильные, PAS позитивные «тромбы» – зеленая стрелка (окраска гематоксилином и эозином) Ув. 500.

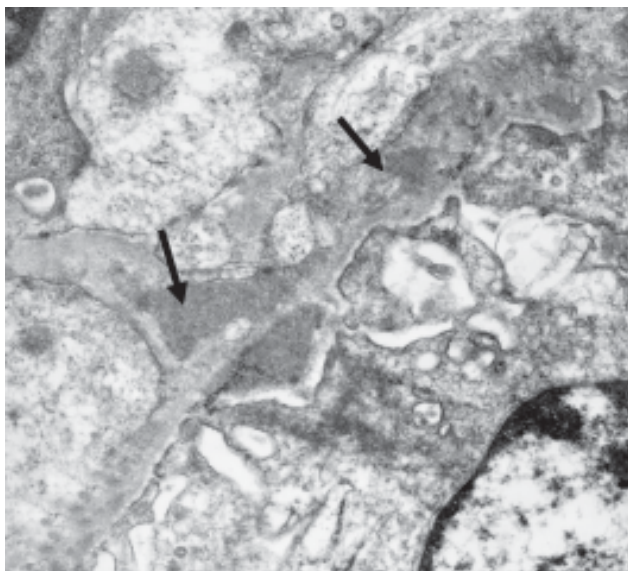


Рис. 3. Значительные субэндотелиальные и интрамембранные депозиты гломерулярной базальной мембраны больной Т. (черные стрелки). Увеличение электронограммы. Ув. 16 000.

Эпителий канальцев находится в состоянии вакуолярной и гидropической дистрофии с единичными участками некробиоза клеток. В строме отмечается умеренная диффузная гиперплазия перитубулярной соединительной ткани с участками заместительного склероза, выраженной гистиолимфоцитарной реакцией и атрофией канальцев до 50% тубулоинтерстиция. В микрососудах тубулоинтерстиция выявляется лейкоцитарная реакция интра- и периваскулярно (рис. 2). В сосудах мышечного типа отмечаются выраженный гиперэластоз внутренней эластической мембраны, очаговый фиброз-

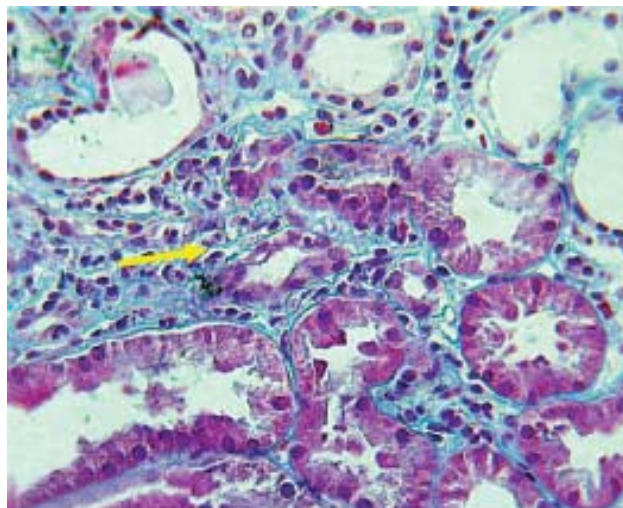


Рис. 2. При световой микроскопии отмечается умеренная диффузная гиперплазия перитубулярной соединительной ткани с участками заместительного склероза, выраженной гистиолимфоцитарной реакцией и атрофией канальцев – желтая стрелка (окраска хромотроп. Ув. 500).

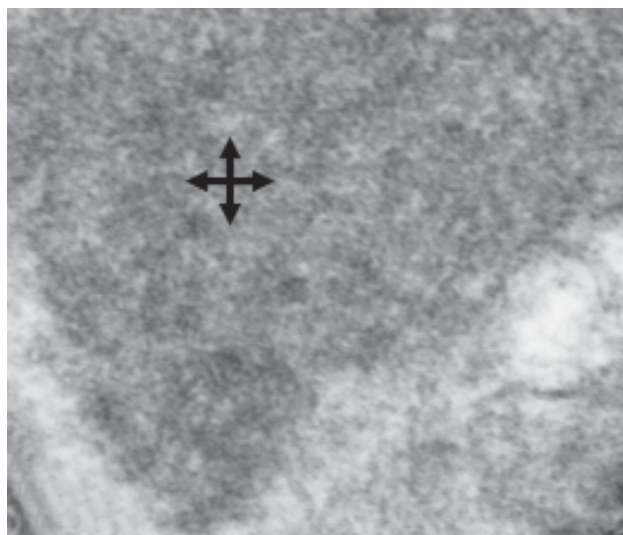


Рис. 4. Слабо структурированная микротубулярная организация криоглобулиновых депозитов на фоне преимущественно аморфных электронно-плотных масс (крестовидная черная стрелка). Увеличение к электронограмме. Ув. 80 000.

ластоз и эластолизис с участками субституции структуры сосудистой стенки и субокклюзии просвета артерий по типу «луковичного» склероза.

В интерлобулярной вене отмечается пристеночный свежий тромб, на 80% обтурирующий просвет данной вены. Реакция с конго-рот (–).

ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ. В исследуемом материале – два клубочка, клубочки с выраженной многоклеточностью, дольчатостью и резким сужением мочевого пространства. Базальные мембраны неравномерной толщины, определяются множественные участки удвоения базальной мембраны. В отдельных дольках определяются участки скопления субэндотелиальных депозитов небольших размеров, средней электронной плотности, а также незначительное число внутримембранных и, в единичных наблюдениях, субэпителиальных депозитов (рис. 3 и 4). Просветы капилляров резко суже-

ны. В единичном наблюдении определяется скопление бесструктурных масс в просвете капилляра.

Иммунофлуоресцентное исследование: обнаружены отложения IgM (++), IgG (3+), C1q (++), каппа (2+) и лямбда (2+) по базальным мембранам клубочков и сегментарно в мезангии. В просвете канальцев и тубулоинтерстициальном компоненте почечной паренхимы отмечается отложение IgM, IgG, легких цепей κ и λ , фракций комплемента C1q и C3, а также фибриногена (++).

Общее заключение: мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит, по-видимому, I типа, с признаками васкулита сосудов мелкого диаметра. Нельзя исключить вторичный генез нефрита, в частности, криоглобулинемической этиологии.

На фоне проводимой синдромальной терапии (антигипертензивные препараты, мочегонные, препараты железа) сохранялась артериальная гипертензия до 180/100 мм рт. ст., анемия, нарастала азотемия (16.02.2008 г. Cr – 0,354 ммоль/л, Ur – 25,8 ммоль/л). Остальные показатели без существенной динамики. В связи с высокой клинико-лабораторной и морфологической активностью криоглобулинемического васкулита, проявляющегося быстро прогрессирующим нефритическим синдромом, с 19.02.2008 г. начата, иммуносупрессивная терапия: преднизолон – 750 мг в/в № 3, затем per os 40 мг/сут, циклофосфамид – 2 мг/кг/сут (–25% с учетом скорости клубочковой фильтрации). Проведено 2 сеанса дискретного плазмафереза с плазмаэкстракцией и замещением донорской плазмой (суммарно 4 л). Отмечен регресс геморрагической сыпи, стойко нормализовалась температура тела, однако продолжала нарастать азотемия, с 26.02.2009 г. появилась олигурия, нарастали признаки гипергидратации. 27.02.2009 г.: Cr – 0,713 ммоль/л, Ur – 50,2 ммоль/л, общий белок – 52 г/л, альбумин – 20,9 г/л. Hb – 73 г/л, Er – $2,34 \times 10^{12}$ /л, Leu – $26,10 \times 10^9$ /л, Tr – 185×10^9 /л, СОЭ – 74 мм/ч, АЛТ – 31 Е/л, АСТ – 20 Е/л. С 27.02.2009 г. начат гемодиализ и вновь проведена пульс-терапия преднизолоном 750 мг в/в № 3, с переходом на 60 мг per os и начато введение ритуксимаба 375 мг/м²/нед. Назначены антибиотики широкого спектра. Состояние пациентки стало улучшаться – исчезли признаки гипергидратации – периферические отеки, рентгенологически жидкость определялась лишь в синусах, АД стабилизировалось на цифрах 150–140/90 мм рт. ст., но показатели функции почек оставались на прежнем уровне. Однако через неделю вновь отмечается ухудшение состояния, проявляющееся рецидивом пурпуры, нарастанием одышки, появлением ортопноэ и, при аускультации, распространенной крепитацией над обоими легкими, при отсутствии признаков системной гипергидратации. Рентгенологически выявлялись массивные интерстициальные изменения в средних и нижних отделах обоих легких, жидкости в плевральных синусах не определялось. Данных за вирусную или бактериальную инфекцию не получено, однако с профилактической целью продолжалась антибактериальная терапия. Проведено следующее введение ритуксимаба в той же дозе (375 мг/м²), вновь проведен пульс преднизолоном 500 мг в/в № 3 с последующим приемом 60–40 мг/сут per os. В течение 8 дней с 09.03 по 16.03 2009 г. вводился габриглобин в дозе 2,5 г в/в. На этой терапии наметилась тенденция к стабилизации состояния, регресс явлений дыхательной недостаточности, функцио-

нальное состояние почек оставалось без изменений. Через 3,5 нед на рентгенограммах легких изменений легочного рисунка не отмечается, Cr – 0,443 ммоль/л, мочевины – 14,1 ммоль/л, общий белок – 51 г/л, Hb – 90 г/л, Er – $2,9 \times 10^{12}$ /л, Leu – $4,9 \times 10^9$ /л, Tr – 96×10^9 /л, СОЭ – 15 мм/ч. 30.03.2009 г. – CD3*CD20 В-лимфоциты – не выявлены (N 6–19%), CD3*CD19 В-лимфоциты – 6,8% (N 6–19%). Криокрит от 01.04.2009 г. – 0%; ПЦР ВГС вирусная нагрузка – $8,5 \times 10^7$ МЕ/мл. АЛТ – 30 Е/л.

В связи со стабилизацией проявлений криоглобулинемического васкулита и нарастанием вiremии начата противовирусная терапия – интерферон альфа (IFN- α)-2b – 1 млн МЕ п/к 3 раза в неделю + рибавирин 200 мг/сут, продолжалась терапия преднизолоном 40 мг/сут, эритропоэтином, препаратами железа. В связи с нарастанием анемии (Hb – 66 г/л, Er – $2,1 \times 10^{12}$ /л), несмотря на продолжающуюся терапию препаратами железа и эритропоэтином, доза рибавирина была уменьшена, а затем препарат отменен. Через 1,5 мес, в связи с развитием панцитопении, отменен IFN- α . При обследовании 30.04.2009 г.: Hb – 73 г/л, Er – $2,4 \times 10^{12}$ /л, Leu – $1,5 \times 10^9$ /л, Tr – 49×10^9 /л, СОЭ – 6 мм/час, АЛТ – 21 Е/л.

В настоящее время пациентка продолжает получать терапию амбулаторным гемодиализом. Рецидивов КГВ не было. При обследовании в октябре 2009 г. криокрит 1%.

ДИАГНОЗ: криоглобулинемический васкулит, ассоциированный с вирусным гепатитом С, с поражением почек, легких, суставов, кожи. Вторичный мембранозно-пролиферативный гломерулонефрит, тип I. Быстро прогрессирующий нефритический синдром от XI/2008 г. с исходом в ХБП 5 стадии. Хронический гемодиализ с 27.02.2009. Азотемия. Анемия. Дизэлектролитемия. Вторичная артериальная гипертензия.

Особенностью данного случая МПГН при криоглобулинемии, ассоциированной с ХВГС, является его fulminantное течение поражения почек с развитием терминальной почечной недостаточности. Считается, что поражение почек при КГВ имеет относительно благоприятное течение [8, 9]. У трети пациентов описывают полную или частичную ремиссию симптомов почечного поражения, даже при тяжелом нефритическом синдроме в дебюте. У другой трети течение заболевания описывают как торпидное и, несмотря на персистирование нефритического синдрома, на протяжении многих лет оно может не приводить к развитию терминальной почечной дисфункции. БПНС, возникший у пациентки, является редким клиническим проявлением гломерулонефрита при криоглобулинемическом васкулите. Морфологическое исследование выявило лобулярный МПГН с признаками высокой активности почечного поражения, полностью соответствующими активности клинической, представленной полиморфно-ядерной инфильтрацией клубочка, признаками васкулита в капиллярах клубочка и микрососудах интерстиция, присутствием гиалиноподобных гомогенных, эозинофильных,

PAS позитивных «тромбов» в просвете отдельных капиллярных петель. Отсутствие выраженного склероза клубочков на момент биопсии давало надежду на восстановление, хотя бы частичное, почечной функции при назначении терапии.

Подтвержденное непосредственное участие ВГС в патогенезе криоглобулинемического васкулита подразумевает необходимость проведения противовирусной терапии. Лечение КГВ, ассоциированного с ХГС, должно быть индивидуализировано в зависимости от тяжести клинических симптомов, в частности почечного поражения и генотипа ВГС и вида раннего вирусологического ответа.

При умеренно выраженной патологии почек и стабильности почечной функции при КГВ применяется сочетанная терапия IFN- α и рибавирином, что позволяет в ряде случаев добиться снижения протеинурии и, как правило, сопровождается снижением клиренса РНК ВГС и уровня циркулирующих криоглобулинов в крови [4].

При тяжелых и прогрессирующих формах заболевания (нефротический синдром, быстро прогрессирующий нефритический синдром, высокая морфологическая активность по данным световой микроскопии) антивирусная терапия, хотя и может привести к снижению виремии, не в состоянии вызвать подавление прогрессирующего иммунного воспалительного процесса, возникшего вследствие отложения криоглобулинов в сосудах почек. В этих случаях начинают лечение со стероидов и цитостатиков с целью подавления как почечной иммунновоспалительной реакции, так и продукции криоглобулинов. Стандартная иммуносупрессия при КГВ включает применение преднизолона и циклофосфамида (500–1000 мг метилпреднизолона в/в в течение трех дней, затем преднизолон и циклофосфамид (2 мг/кг в день) на протяжении 2–4 мес [10].

В случае тяжелого течения КГВ, в частности при быстро прогрессирующем течении почечной патологии, теоретически оправдано применение плазмафереза, с точки зрения удаления из циркуляции патогенных криоглобулинов. Проведение одновременной иммуносупрессии в этих случаях необходимо во избежание синдрома «рикошета», часто наблюдаемого после процедуры плазмафереза [10].

Если стандартная терапия неэффективна, плохо переносится или противопоказана, альтернативой стандартной иммуносупрессии может быть ритуксимаб (химерное моноклональное антитело мыши/человека, которое специфически связывается с трансмембранным антигеном CD20 – трансмембранным протеином, экспрессированном на пре-В лимфоцитах и зрелых лимфоцитах). Сообщается о высокой частоте ремиссий КГВ, полных

или частичных, среди пациентов, резистентных к предыдущей терапии при применении ритуксимаба [11]. У пациентов с вовлечением почек при назначении ритуксимаба (375 мг/м²/нед) от двух до четырех раз наблюдалось снижение уровня протеинурии, и появлялась тенденция к стабилизации функции почек [4]. Терапия ритуксимабом в сочетании с пегилированным интерфероном и рибавирином у резистентных к традиционной терапии пациентов считается эффективной и безопасной [4, 12]. Среди отрицательных эффектов следует отметить, что у части пациентов при терапии ритуксимабом отмечалось нарастание виремии [4, 13]. Кроме того, развитие длительной В-клеточной лимфопении при терапии ритуксимабом может приводить к развитию инфекционных осложнений. У ряда больных после завершения терапии ритуксимабом наблюдались обострения КГВ [14]. Отдаленные результаты терапии ритуксимабом в настоящее время отсутствуют.

В нашем случае назначение комплексной иммуносупрессии привело к регрессии кожных высыпаний, прекращению лихорадки и, в конечном счете, к ремиссии криоглобулинемии, однако нормализация криокрита с 90 до 0% не привела к обратной динамике почечной дисфункции. Вероятно, столь высокий уровень криоглобулинов в крови, с преципитацией их в гломерулярных и канальцевых капиллярах с образованием интралюминальных тромбов и развитием некроза капилляров, вызывал необратимые изменения в клубочке и интерстиции.

Высокий уровень криоглобулинов крови у пациентки сопровождался крайне высокой клинической активностью криоглобулинемического васкулита. Однако однозначного мнения о прогностическом значении величины криокрита в настоящее время нет. Ряд авторов считают, что существует ассоциация между уровнем криокрита и РФ и выраженностью клинических проявлений при КГВ [5, 6, 15, 16]. Тем не менее, существует мнение, что хотя определение криоглобулинов в сыворотке является фундаментальным признаком при диагностике СК, их уровень в крови обычно не коррелирует с активностью, клиническими проявлениями, в том числе почечными, и прогнозом заболевания [1, 3].

По данным некоторых исследований, к неблагоприятным прогностическим факторам развития почечной недостаточности, являющимися также предикторами и общей смертности при КГВ, и имевшимися у нашей пациентки, помимо высокого уровня криокрита, относятся лихорадка, низкий уровень С3, пурпура, уровень креатинина плазмы более 1,5 мг/дл на момент обследования [6, 16].

Противовирусная терапия при тяжелых формах почечного поражения назначается после получения ответа на иммуносупрессию или одновременно с ней [17]. Однако, так как в почках происходит метаболизм и клиренс как интерферона, так и рибавирина, при почечной дисфункции возрастает риск развития связанных с их применением осложнений. Применение IFN- α , как правило, сопровождается системными симптомами: лихорадкой, ознобами, миалгиями, желудочно-кишечными расстройствами, а также подавлением всех ростков костномозгового кроветворения. Эти эффекты являются дозо-зависимыми. Кроме того, IFN- α при активном васкулите с поражением почек может ухудшить течение гломерулонефрита или васкулита, и его назначение требует тщательного мониторинга за функцией почек [18]. Рибавирин и его аналоги могут вызывать гемолитическую анемию, особенно при назначении в сочетании с интерфероном [13]. Поэтому в случае почечной дисфункции используют меньшие дозы рег-IFN- α [14]. Назначение рибавирина при почечной дисфункции увеличивает риск развития гемолитической анемии, поэтому считается, что он противопоказан при СКФ < 50 мл/мин / 1,73 м². Тем не менее, его назначение на III–V стадиях ХБП возможно, но в меньших дозах и при тщательном мониторинговании красной крови. Сообщается о положительном эффекте сочетанной терапии IFN- α -2b и рибавирином у пациентов с почечной дисфункцией, как на диализе, так и в додиализном периоде [5, 19]. Авторы рекомендуют его назначение в малых дозах, еженедельный контроль уровня гемоглобина и лечение анемии с использованием более высоких доз эритропоэтина. Назначение эритропоэтина оказывается более эффективным средством борьбы с анемией и улучшения качества жизни пациентов при проведении антивирусной терапии, чем уменьшение дозы противовирусных препаратов [20].

Среди предикторов резистентности к противовирусной терапии ХГС у данной пациентки был не только первый генотип ВГС, но и высокая вирусная нагрузка до начала лечения [21]. Однако, учитывая потенциальные последствия высокой виремии и тяжесть течения криоглобулинемического васкулита в данном случае, такая попытка была предпринята.

Особенностью представленного случая является также нормальный уровень трансаминаз при высокой вирусной нагрузке и высокой активности КГВ с развитием потенциально фатальных осложнений. По данным литературы, до 25–45% пациентов с ХВГС имеют постоянно нормальный уровень АЛТ [22, 23]. У 65% пациентов с наличием анти-

тел к ВГС и с нормальным уровнем трансаминаз определяется виремия [24]. В большинстве исследований выявляют лишь слабые связи между повышением АЛТ и тяжестью гистопатологических изменений при биопсии печени [25]. Ранее, при использовании монотерапии интерфероном в этой группе пациентов, отмечались случаи обострения ХВГС и поэтому считалось, что интерферон им не показан [23]. Позже было продемонстрировано, что ответ на терапию пегилированным интерфероном в сочетании с рибавирином у этих пациентов не отличается от пациентов с повышенным уровнем трансаминаз [22]. Согласно рекомендациям Американской ассоциации по изучению болезней печени (AASLD) 2009 г., показания для противовирусного лечения у этой группы больных должны определяться независимо от уровня трансаминаз. При выборе объема и характера терапии, помимо тяжести поражения печени (морфологические признаки активности гепатита и наличие выраженного фиброза), должны учитываться также потенциальные осложнения терапии, предполагаемая вероятность эффекта и наличие тяжелых внепеченочных манифестаций, таких как КГВ или гломерулонефрит [21].

Гломерулонефрит при КГВ, ассоциированном с ВГС, может характеризоваться тяжелым течением и осложняться нарушением функции почек, вплоть до развития терминальной почечной недостаточности. Лечение криоглобулинемического васкулита нередко оказывается неэффективным или отменяется в связи с плохой переносимостью противовирусной терапии или развитием осложнений. Разрабатываются новые эффективные, лучше переносимые методы терапии. К ним относятся моноклональные антитела, в том числе анти-CD20 (ритуксимаб), новые формы интерферона и рибавирина, ингибиторы протеаз, ингибиторы полимераз. Возможно, что разработка специфических ингибиторов ВГС позволит индивидуализировать терапию в зависимости от особенностей вируса и характера развившихся осложнений.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ферри К. Смешанная криоглобулинеми. Нефрология 2010; 14 (1)
2. Barry M. Brenner, «Brenner and Rector's The Kidney», 8th ed. Saunders 2007, chapter 32
3. D'Amico G. Renal involvement in hepatitis C infection: cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Kidney Int* 1998; 54: 650–671
4. Perico N, Cattaneo D, Bikbov B, Remuzzi G. Hepatitis C Infection and Chronic Renal Diseases. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 207–220
5. Meyers CM, Seeff LB, Stehman-Breen C O, Hoofnagle JH. Hepatitis C and renal disease: an update, *American Journal of Kidney Diseases* 2003; 42(4) 631– 657
6. Tarantino A, Campise M, Banfi G, et al. Long-term predictors of survival in essential mixed cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Kidney Int* 1995; 47: 618–623

7. Johnson RJ, Gretch DR, Yamabe H, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 1993; 328: 465-470
8. Garini G, Allegri L, Iannuzzella F, et al. HCV-related cryoglobulinemic glomerulonephritis: implications of antiviral and immunosuppressive therapy. *Acta Biomed* 2007; 78: 51-59
9. Sinico RA, Fornasieri A, D'Amico G. Renal manifestations associated with hepatitis C virus. *Ann Med Interne* 2000; 151(1): 41-45
10. Saadoun D, Delluc A, Piette JC, Cacoub P. Treatment of hepatitis C-associated mixed cryoglobulinemia vasculitis. *Current Opinion in Rheumatology* 2008; 20: 23-28
11. Cacoub P, Delluc A, Saadoun D, et al. Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) treatment for cryoglobulinemic vasculitis: where do we stand. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 283-287
12. Милованова СЮ, Лопаткина ТН, Козловская ЛВ, Краснова ТН. Моноклональные антитела к В-лимфоцитам (ритуксимаб) в лечении HCV-ассоциированного криоглобулинемического гломерулонефрита тяжелого течения. *Тер арх* 2007; 6: 69-72
13. Forde KA, Reddy KR. Hepatitis C Virus Infection and Immunomodulatory Therapies. *Clinics in Liver Disease* 2009; 13(3): 391-401
14. Fabrizi F, Lunghi G, Messa P, Martin P. Therapy of hepatitis C virus-associated glomerulonephritis: current approaches. *J Nephrol* 2008; 21: 813-825
15. Roccatello D, Fornasieri A, Giachino O, et al. Multicenter Study on Hepatitis C Virus-Related Cryoglobulinemic Glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 2007; 49(1): 69-82
16. Ramos-Casals M, Robles A, Brito-Zern P, et al. Life-threatening cryoglobulinemia: clinical and immunological characterization of 29 cases. *Semin Arthritis Rheum* 2006; 36(3): 189-196
17. Ahmed MS, Wong CF, Shawki H, et al. Rapidly deteriorating renal function with membranoproliferative glomerulonephritis Type 1 associated with hepatitis C treated successfully with steroids and antiviral therapy: a case report and review of literature. *Clin Nephrol* 2008; 69(4): 298-301
18. Ohta S, Yokoyama H, Wada T et al. Exacerbation of glomerulonephritis in subjects with chronic hepatitis C virus infection after interferon therapy. *Am J Kidney Dis* 1999; 33(6): 1040-1048
19. Bruchfeld A, Lindahl K, Stehle L, et al. Interferon and ribavirin treatment in patients with hepatitis C-associated renal disease and renal insufficiency. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(8): 1573-1580
20. McHutchison JG, Manns MP, Brown RS Jr, et al. Strategies for managing anemia in hepatitis C patients undergoing antiviral therapy. *Am J Gastroenterol* 2007; 102(4): 880-889
21. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: An update. *Hepatology* 49(4): 1335-1374
22. Rossini A, Ravaggi A, Biasi L et al. Virological response to interferon treatment in hepatitis C virus carriers with normal aminotransferase levels and chronic hepatitis. *Hepatology* 1997; 26(4): 1012-1017
23. Marcellin P, Levy S, Erlinger S. Therapy of hepatitis C: Patients with normal aminotransferase levels. *Hepatology* 1997; 26[Suppl1]:133S-136S
24. Jamal MM, Soni A, Quinn PG et al. Clinical features of hepatitis C-infected patients with persistently normal alanine transaminase levels in the southwestern United States. *Hepatology* 1999; 30(5): 1307-1311
25. <http://consensus.nih.gov/2002/2002HepatitisC2002116html.htm>

Поступила в редакцию 09.02.2010 г.

Принята в печать 02.03.2010 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 должны 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.). Упомянуты все методы исследований, применявшиеся в работе, включая методы статистической обработки данных. При упоминании аппаратуры и новых лекарств в скобках указывайте производителя и страну, где он находится.

Результаты. Их следует представлять в логической последовательности в тексте, таблицах и на рисунках. В тексте не следует повторять все данные из таблиц и рисунков, надо упоминать только наиболее важные из них. В рисунках не следует дублировать данные, приведенные в таблицах. Подписи к рисункам и описание деталей на них под соответствующей нумерацией надо представлять на отдельной странице. Величины измерений должны соответствовать Международной системе единиц (СИ), за исключением показателей, традиционно измеряемых в других единицах.

Место, где в тексте должны быть помещены рисунок или таблица, отмечается на поле страницы квадратом, в который помещается номер рисунка или таблицы.

Обсуждение. Надо выделять новые и важные аспекты результатов исследования и по возможности сопоставлять их с данными других исследователей, не следует повторять сведения, уже приводившиеся в разделе «Введение», и подробные данные из раздела «Результаты». В обсуждение можно включить обоснованные рекомендации.

Заключение должно кратко суммировать основные итоги работы.

Объединение рубрик (например, «Результаты и обсуждение») недопустимо!

Таблицы. Каждая таблица печатается на отдельной странице через два интервала и должна иметь название и порядковый номер соответственно первому упоминанию ее в тексте. Каждый столбец в таблице должен иметь краткий заголовок (можно использовать аббревиатуры). Все разъяснения, включая расшифровку аббревиатур, надо размещать в сносках. Указывайте 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 официального 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, Whisnart 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.

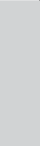
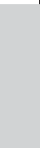
Адрес редакции: 197089, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 17, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Нефрокорпус, журнал «Нефрология»

Телефон: (812) 346-39-26; факс: (812) 234-91-91

E-mail: journal@nephrolog.ru; интернет-сайт: <http://journal.nephrolog.ru>

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  на журнал индекс издания 45861		Абонемент на  на журнал индекс издания 45860																																																	
НЕФРОЛОГИЯ наименование издания		НЕФРОЛОГИЯ наименование издания																																																	
<table><tr><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td><td>9</td><td>10</td><td>11</td><td>12</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12													<table><tr><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td><td>9</td><td>10</td><td>11</td><td>12</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																								
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																								
Куда  почтовый индекс адрес		Куда  почтовый индекс адрес																																																	
Кому фамилия, инициалы		Кому фамилия, инициалы																																																	
Доставочная карточка на  на журнал индекс издания 45861		Доставочная карточка на  на журнал индекс издания 45860																																																	
НЕФРОЛОГИЯ наименование издания		НЕФРОЛОГИЯ наименование издания																																																	
Стоимость подписки руб. коп. Количество комплектов		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>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12													на 200 год по месяцам <table><tr><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td><td>9</td><td>10</td><td>11</td><td>12</td></tr><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																								
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																								
Куда  почтовый индекс адрес		Куда  почтовый индекс адрес																																																	
Кому фамилия, инициалы		Кому фамилия, инициалы																																																	
Телефон:		Телефон:																																																	

Абонемент на газету журнал индекс издания 47959											
НЕФРОЛОГИЯ наименование издания											
КОЛИЧЕСТВО КОМПЛЕКТОВ:											
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											
НЕФРОЛОГИЯ наименование издания											
Стоимость подписки руб. коп. Количество комплектов											
на 200 год по месяцам											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Куда почтовый индекс		адрес									
Кому		фамилия, инициалы									
		Телефон:									