

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2012
УДК 616.61-036.12-092:616-018.74

О.В. Комарова, И.Е. Смирнов, А.Г. Кучеренко, А.Н. Цыгин, И.С. Костюшина

ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ ДИСФУНКЦИЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК У ДЕТЕЙ

Научный центр здоровья детей РАМН, Москва 119991, Москва, Ломоносовский просп., 2, стр. 1

Исследованы изменения сывороточных концентраций эндотелина-1 (ET-1) и межклеточная молекула адгезии 1 (ICAM-1) у 138 больных детей в I и II стадиях хронической болезни почек. При значениях скорости клубочковой фильтрации (СКФ) более 90 мл/мин выявлено обратимое повышение уровней ET-1 и ICAM-1 у детей в активной стадии как стероидрезистентного, так и стероидзависимого нефротического синдрома. У пациентов с прогностически неблагоприятными неиммунными гломерулопатиями и поликистозом почек при отсутствии выраженной протеинурии и артериальной гипертензии уровни изученных соединений существенно не отличались от показателей референтной группы. При уменьшении СКФ ниже 90 мл/мин выявлены наиболее высокие показатели сывороточных концентраций ET-1 и ICAM-1 как при иммунных, так и при неиммунных гломерулопатиях. Это указывает на высокую степень участия эндотелиальных нарушений в прогрессии хронической патологии почек, что дает основания рассматривать возможность использования показателей эндотелиальной дисфункции в качестве потенциальных маркеров развития нефросклероза у детей.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, дети, нефросклероз, эндотелиальная дисфункция, эндотелин-1, межклеточная молекула адгезии 1

O. V. Komarova, I. E. Smirnov, A. G. Kucherenko, A. N. Tsygin, I. S. Kostyushina

ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN CHILDREN WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE

Federal State budgetary Institution "Scientific Centre of Child Healthcare" of the Russian Academy of Medical Sciences, 2/62, Lomonosov avenue, Moscow, 119991

The changes in serum concentrations of endothelin-1 (ET-1) and ICAM-1 were investigated in 138 children with chronic kidney disease (CKD) in stage 1 and 2. For values of glomerular filtration rate (GFR) > 90 ml/min a reversible increase in ET-1 and ICAM-1 level in children with active as steroid-resistant as steroid-dependent nephrotic syndrome has been shown. In patients with prognostically unfavorable nonimmune glomerulopathies and polycystic kidney disease in the absence of pronounced proteinuria and hypertension levels of the studied compounds were not significantly different from seen in the reference group. With decreasing GFR below 90 ml/min, the highest indicators of serum ET-1 and ICAM-1 concentrations were detected as in the immune, and in nonimmune glomerulopathies. This indicates a high degree of participation of endothelial disorders in CKD progression, which gives reason to consider the use of indicators of endothelial dysfunction as potential markers of development of nephrosclerosis in children.

Key words: chronic kidney disease, children, nephrosclerosis, endothelial dysfunction, endothelin-1, intercellular adhesion molecule-1

Барьерное положение эндотелия сосудов как активного органа обуславливает его ведущие функции в организме: поддержание гомеостаза путем регуляции структурного состояния сосудов (синтез/ингибирование факторов пролиферации), тонуса сосудов (вазодилатация/вазоконстрикция), гемостаза (синтез и ингибирование факторов фибринолиза и агрегации тромбоцитов), местного воспаления (продукция про- и противовоспалительных факторов). Эндотелиальная дисфункция (ЭД) является одним из ведущих звеньев в патогенезе большинства хронических форм патологии почек как иммунного, так и неиммунного генеза [1, 2, 4, 5, 14, 21]. Различная выраженность ЭД выявлена у больных с диабетической нефропатией, артериальной гипертензией, различными формами гломеруло-нефритов [7, 27].

Современная концепция хронической болезни почек (ХБП), отражающая характер и скорость про-

грессирования почечной патологии до терминальной стадии почечной недостаточности, также требует пристального изучения роли эндотелиальной дисфункции как возможного прогностически значимого фактора в развитии нефросклероза [8,20]. В связи с этим представляется важной разработка новых способов прогнозирования исходов различной хронической патологии [3, 13, 24, 25].

Клиническими маркерами прогрессирования почечной патологии является альбуминурия/протеинурия, артериальная гипертензия [3, 11, 16]. Микроальбуминурия является доказанным высокочувствительным маркером прогностически неблагоприятного поражения почек, а также отражает наличие ЭД. Выявление неселективной протеинурии свидетельствует о грубом повреждении почечных структур и, кроме того, становится непосредственным повреждающим фактором, способствующим прогрессированию нефросклероза. Повреждающее действие системной артериальной гипертензии на почки реализуется через нарушение почечной гемодинамики под влиянием каскада изменений в ренин-ангиотензин-альдостероновой системе [7, 15].

Появление указанных клинических симпто-

Для корреспонденции: Комарова Ольга Викторовна, канд. мед. наук., ст. науч. сотр. нефрологического отд-ния НИИ педиатрии НЦЗД РАМН, e-mail: komarova@nczd.ru

мов свидетельствует о выраженном, часто необратимом повреждении почечной ткани. В связи с этим продолжается активное исследование ранних биологических маркеров почечного повреждения, среди которых активно изучаются сывороточные показатели ЭД, такие как эндотелин-1 (ЕТ-1), асимметричный диметиларгинин (ADMA), циркулирующий фактор Виллебранда, ингибитор активатора плазминогена 1 (РАI-1), гомоцистеин, молекулы клеточной адгезии (sICAM-1, sICAM-2, sVCAM-1), тромбомодулин, С-реактивный белок. Выявлены корреляции между биомаркерами ЭД (ADMA, РАI-1) и разными уровнями скорости клубочковой фильтрации у больных с ХБП, артериальной гипертензией, сахарным диабетом, что указывает на участие эндотелия в процессах склерозирования почечной ткани [19, 27].

Возможность сочетания анализа клинических показателей, таких как уровень экскреции белка и АД, с биомаркерами прогрессирования ХБП позволит существенно расширить возможности диагностики и мониторинга ХБП, начиная с функционально компенсированной I стадии.

В нашей работе основное внимание направлено на изучение двух потенциальных значимых аспектов нефросклеротического действия ЭД – вазоконстрикции и инициализации воспаления посредством экспрессии активных адгезивных молекул.

Установлено, что мощными вазоактивными соединениями являются эндотелиальные пептиды – эндотелины. Самый изученный представитель этого класса – ЕТ-1. В высоких концентрациях он активирует рецепторы на гладкомышечных клетках, стимулируя стойкую вазоконстрикцию [6, 18]. Кроме того, ЕТ-1 обладает выраженной митогенной активностью в гломерулярных клетках, а также стимулирует пролиферацию эпителиальных клеток и фибробластов [12]. Актуальность изучения именно этого маркера ЭД обусловлена и тем, что в настоящее время ведутся активные поиски возможности фармакологического ингибирования активности эндотелинов, что может существенно улучшить терапевтические подходы при ХБП [10].

Молекулы межклеточной адгезии – это белки, связанные с плазматической мембраной и обеспечивающие механическое взаимодействие клеток друг с другом. Повышение адгезивности имеет большое значение в патогенезе ЭД, в первую очередь за счет высокой активности VCAM-1 и ICAM-1, приводящих к адгезии различных клеточных популяций с последующим развитием индуцированных воспалительных реакций [5, 9]. ICAM-1 играет важную роль в регуляции адгезии лейкоцитов и их трансэндотелиальной миграции, а также является дополнительным фактором активации Т-лимфоцитов. Очевидно, что эти соединения правомерно рассматриваются в качестве маркеров индуцированной активности эндотелия [2, 16].

В связи с изложенным целью настоящего исследования явилось определение значения ЭД на ранних стадиях ХБП почек у детей с иммунными и неиммунными гломерулопатиями.

Материалы и методы

Обследовано 138 больных. Всем детям было проведено стандартное комплексное клинко-лабораторное обследование. При наличии нефротического синдрома (НС) или подозрении на наследственный нефрит выполнялась пункционная биопсия почки с проведением световой микроскопии биоптата и электронной микроскопии для морфологического подтверждения диагноза наследственного нефрита.

Для определения стадии ХБП рассчитывалась скорость клубочковой фильтрации по формуле Шварца [22].

Клинко-лабораторная характеристика обследованных больных представлена в табл. 1. В 1-ю группу были включены 22 ребенка с активной стадией стероидрезистентного нефротического синдрома (из них 16 больных с документированным фокально-сегментарным гломерулосклерозом (ФСГС) и 6 детей с мембранопрлиферативным гломерулонефритом (МПГН)). 2-ю группу составили 18 детей с активной стадией стероидзависимого нефротического синдрома.

Таблица 1

Клинко-лабораторная характеристика больных детей

Показатели	Группы	Группа						
		1-я (n = 22)	2-я (n = 18)	3-я (n = 23)	4-я (n = 20)	5-я (n = 14)	6-я (n = 16)	7-я (n = 25)
Морфологический диагноз:		ФСГС (16) МПГН-6	БМИ (16) МезПГН-2	БМИ (13) ФСГС-10	–	–	ФСГС (12) МПГН-4	–
Протеинурия в среднем, г/сут		2,8	3,4	0,1	0,45	0,75	3,3	–
Артериальная гипертензия I–II ст., процент больных		60	30	–	30	70	90	–
СКФ (по формуле Шварца), мл/ мин		> 90	> 90	> 90	< 90 > 60	< 90 > 60	< 90 > 60	> 90

Таблица 2

Сывороточные уровни ЕТ-1 и ICAM-1 у детей с ХБП I и II стадий

Изученные соединения	Группа						
	1-я	2-я	3-я	4-я	5-я	6-я	Контрольная
ЕТ-1, фМ/мл	0,53 ± 0,15*	0,65 ± 0,18*	0,21 ± 0,06	0,25 ± 0,09	0,73 ± 0,14**	1,38 ± 0,6**	0,248 ± 0,06
ICAM-1, нг/мл	377,14 ± 55,3*	397,14 ± 41,5*	265,0 ± 30,8	319,09 ± 48,7	422 ± 22,8**	382 ± 54,03**	230 ± 47
СКФ, мл/мин	> 90	> 90	> 90	< 90 > 60	< 90 > 60	< 90 > 60	> 90

Пр и м е ч а н и е. Звездочками обозначены уровни значимости различий по сравнению с данными. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$

ма (из них 16 больных имели диагноз - болезнь минимальных изменений (БМИ) и 2 ребенка – мезангиопролиферативный гломерулонефрит (МезПГН)). В 3-ю группу вошли 23 ребенка в стадии ремиссии стероидрезистентного (10 больных с ФСГС) и стероидзависимого нефротического синдрома (13 детей с БМИ). 4-ю группу составили дети с прогностически неблагоприятными неиммунными гломерулопатиями: рефлюкс-нефропатией (6), состоянием после перенесенного гемолитико-уремического синдрома (6) и наследственным нефритом (4), а также с аутосомно-доминантным вариантом поликистоза почек (4). Дети, включенные в 1–4-ю группы, находились в функционально компенсированной стадии (скорость клубочковой фильтрации – СКФ > 90 мл/мин). 5-я группа включала 14 детей с рефлюкс-нефропатией (4), поликистозом почек, аутосомно-доминантным вариантом (2), состоянием после перенесенного гемолитико-уремического синдрома (6), наследственным нефритом (2) в условиях прогрессивного снижения уровня СКФ ниже 90 мл/мин, но выше 60 мл/мин. В 6-ю группу были включены 16 детей со стероидрезистентным нефротическим синдромом в активной стадии в условиях прогрессивного снижения уровня СКФ ниже 90 мл/мин, но выше 60 мл/мин. 7-ю, референтную, группу составили 25 условно здоровых детей.

Для определения сывороточного уровня ЕТ-1 и молекул адгезии (ICAM-1) использовался метод твёрдофазного энзимсвязанного иммуносорбентного анализа (ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay). Забор крови осуществлялся утром натощак из локтевой вены с последующим центрифугированием при 2000 об/мин в течение 15 мин. Сыворотки хранились при температуре -70°C до проведения анализа. Все полученные данные обработаны статистически с использованием пакета Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение

У условно здоровых детей сывороточные уровни изученных нами маркеров состояния эндотелиальной системы составили: ЕТ-1 $0,248 \pm 0,06$ фМ/мл, ICAM-1 230 ± 47 нг/мл. У больных с ХБП I и II стадии изменения концентраций этих соединений представлены в табл. 2.

У детей с нормальным уровнем СКФ в активной стадии стероидрезистентного и стероидзависимого нефротического синдрома отмечено достоверное повышение уровня ЕТ-1 и ICAM-1 в сыворотке крови по сравнению с детьми в контрольной группе. При этом значения ЕТ-1 и ICAM-1 у детей с прогностически неблагоприятными формами НС (1-я группа) существенно не отличались от значений у больных с прогностически благоприятным НС (2-я группа). В стадии ремиссии НС уровни ЕТ-1 и ICAM-1 не превышали нормальных значений. У детей с неиммунными гломерулопатиями и поликистозом почек (3-я группа) в функционально компенсированной стадии при отсутствии значимой протеинурии (более 1 г/л), выраженной артериальной гипертензии (только у 30% больных данной группы) средний уровень ЕТ-1 в сыворотке также не отличался от нормальных показателей. При этом средний уровень ICAM-1 был определенно выше значений контрольной группы, однако достоверных различий не выявлено. При этом уже при снижении уровня СКФ ниже 90 мл/мин отмечено достоверное повышение обоих показателей у больных с неиммунными гломерулопатиями и поликистозом почек (5-я группа), а также при прогрессировании активного стероидрезистентного НС (6-я группа). Следует отметить, что средние значения сывороточного уровня ЕТ-1 и ICAM-1 у больных 5-й и 6-й групп не только существенно превышали контрольные показатели, но и были достоверно выше их значений у детей с активным нефротическим синдромом в функционально компенсированной стадии.

Таким образом, нами установлено значимое повышение концентраций ЕТ-1 и ICAM-1 у детей в активной стадии НС. Это может быть обусловлено повреждающим действием таких проявлений НС, как массивная протеинурия, гиперлипидемия, нарушения фибринолиза, и согласуется с представлением о том, что ЭД отражает тяжесть течения процесса и риски развития осложнений ХБП [23, 26, 28].

Нормальные значения показателей ЭД при достижении ремиссии НС также указывают на взаимосвязь дисфункции эндотелия именно с активностью нефротического синдрома и дополнительно обосновывают незамедлительность назначения и патогенетической, и нефропротективной терапии сразу после верификации диагноза.

Выраженное повышение уровней ET-1 и ICAM-1 у всех больных при снижении СКФ ниже 90 мл/мин свидетельствует о вовлеченности эндотелиальных нарушений в прогрессирование патологии почек у детей. Это позволяет использовать изученные нами показатели ЭД в качестве потенциальных биомаркеров развития нефросклероза, одновременно необходимо комплексное изучение предикторов прогрессивного снижения функций почек еще в функционально компенсированной стадии ХБП у детей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарь И.А., Климонтов В.В., Симакова А.И. Провоспалительные цитокины в патогенезе, диагностике и лечении диабетической нефропатии // *Клин. нефрол.* – 2010. – № 6. – С. 52–56.
2. Вацурина Т.В., Сергеева Т.В. Цитокины и адгезивные молекулы в патогенезе хронического гломерулонефрита // *Нефрол. и диализ.* – 2002. – Т. 4, № 3. – С. 1–17.
3. Лойман Э., Цыгин А.Н., Саркисян А.А. Детская нефрология: Практич. руководство. – М.: Литтерра, 2010.
4. Маргиева Т.В., Сергеева Т.В., Смирнов И.Е. Эндотелиальная дисфункция при хронических гломерулонефритах у детей // *Вестн. РАМН.* – 2008. – № 12. – С. 10–14.
5. Пушкарева Т.А., Корякина Л.Б., РуновичА.А. и др. Критерии оценки дисфункции эндотелия артерий и пути ее коррекции (обзор литературы) // *Клин. лаб. диагн.* – 2008. – № 5. – С. 50–53.
6. Смирнов А.В., Петрицев Н.Н., Панина И.Ю. и др. Уровень эндотелина 1 и реактивность сосудов микроциркуляторного русла кожи у больных на ранних стадиях хронической болезни почек // *Тер. арх.* – 2011. – № 6. – С. 13–17.
7. Томилина Н. А., Багдасарян А. Р. Механизмы нефросклероза и фармакологическая ингибция внутри почечной ренин-ангиотензивной системы как основа нефропротективной стратегии при хронических заболеваниях нативных почек и почечного трансплантата (обзор литературы) // *Нефрол. и диализ.* – 2004. – Т. 6, – № 3. – С. 1–13.
8. Тюренков И.Н., Воронков А.В., Слиецанс А.А. и др. Эндотелиопротекторы – новый класс фармакологических препаратов // *Вестн. РАМН.* – 2012. – № 7. – С. 50–57.
9. Aikaterini A. P., Alexopoulos E., Leontsini M. et al. C5b-9 and adhesion molecules in human idiopathic membranous nephropathy // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2002. – Vol. 17. – P. 57–63.
10. Andreas D., Coll B., Pritchett Y et al. Clinical efficacy of the selective endothelin A receptor antagonist, antagonist, atrasenta // *Life Sci.* – 2012. – N 2 (on line).
11. Annuk M, Zilmer M., Lind L. et al. Oxidative stress and endothelial dysfunction in chronic renal failure // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2001. – Vol. 12. – P. 2747–2752.
12. Davenport A.P., Maguire J.J. Pharmacology of renal endothelin receptors // *Contrib. Nephrol.* – 2011. – Vol. 172. – P. 1–17.
13. Dhaun N., Goddard J., Webb D.J. The endothelin system and its antagonism in chronic kidney disease // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2006. – Vol. 17. – P. 943–955.
14. Endemann D.H., Schiffrin E.L. Endothelial dysfunction // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2004. – Vol. 115. – P. 1983–1992.
15. Hogg R.J. Screening for CKD in children: A global controversy // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* – 2009. – Vol. 4, N 2. – P. 509–515.
16. Fasset R.G., Venuthurupalli S.K., Gobe G.C. et al. Biomarkers in chronic kidney disease: A review // *Kidney Int.* – 2011. – Vol. 80, N 8. – P. 806–821.
17. Flicer D., Kronenberg F., Kieselstein J.T. Asymmetric dimethylarginine and progression of chronic kidney disease: the mild to moderate kidney disease study // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2005. – Vol. 16. – P. 2456–2461.
18. Lehrke I., Waldherr R., Ritz E. et al. Renal endothelin-1 and endothelin receptor type B expression in glomerular disease with proteinuria // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2001. – Vol. 12. – P. 2321–2329.
19. Mihout F., Shweke N., Bige N. et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) induces chronic kidney disease through a mechanism involving collagen and TGF- β 1 synthesis // *J. Pathol.* – 2011. – Vol. 223. – P. 37–45.
20. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification // *Am. J. Kidney Dis.* – 2002. – Vol. 39, N 2, Suppl. 1. – P. S1–S266.
21. Nelson C.I., Karschimkus C.S., Dragicevic G. et al. Systemic and vascular inflammation is elevated in early IgA and type 1 diabetic nephropathies and relates to vascular disease risk factors and renal function // *Clin. Chem.* – 2005. – Vol. 51. – P. 1531–1533.
22. Schwartz G. J., Muñoz A, Schneider M.F. et al. New equations to estimate GFR in children with CKD // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2009. – Vol. 20, N 3. – P. 629–637.
23. Shouman M., Abdallah N., Tablawe N. et al. Biochemical markers of endothelial dysfunction in pediatric nephritic syndrome // *Arch. Sci.* – 2009. – Vol. 5. – P. 415–421.
24. Stam F., van Guldener C., Becker A. et al. Endothelial dysfunction contributes to renal function-associated cardiovascular mortality in a population with mild renal insufficiency: the Hoorn study // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2006. – Vol. 17. – P. 537–545.
25. Taal M., Brenner B.M. Renal risk scores: Progress and prospects // *Kidney Int.* – 2008. – Vol. 73. – P. 1216–1219.
26. Zhang Q., Zeng C., Cheng Z. et al. Biomarkers of endothelial dysfunction in patients with primary focal segmental glomerulosclerosis // *Nephrology.* – 2012. – Vol. 4. – P. 338–345.
27. Zoccali C. Endothelial dysfunction in CKD: a new player in town? // *Nephrol. and Dialys.* – 2008. – Vol. 23, N 3. – P. 783–785.
28. Woroniecki RP, Shatal IF, Supe K. et al. Urinary cytokines and steroid responsiveness in idiopathic nephritic syndrome of childhood // *Am. J. Nephrol.* – 2008. – Vol. 28. – P. 83–90.

Поступила 10.09.12

Сведения об авторах:

Смирнов Иван Евгеньевич, доктор мед. наук, проф., зав. лаб. патофизиологии с блоком радионуклидных исследований НИИ педиатрии НЦЗД РАМН; e-mail: smirnov@nczd.ru; **Кучеренко Алла Георгиевна**, доктор мед. наук, проф, вед. науч. сотр. лаб. патофизиологии с блоком радионуклидных исследований НИИ педиатрии НЦЗД РАМН; **Цыгин Алексей Николаевич**, доктор мед. наук, проф. зав. нефрологическим отделением НИИ педиатрии НЦЗД РАМН; e-mail: tsygin@nczd.ru; **Костюшина Ирина Сергеевна**, аспирант нефрологического отд-ния НИИ педиатрии НЦЗД РАМН.