

**М. А. Белова**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики, Оренбургская государственная медицинская академия

**Ю. Н. Копылов**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики, Оренбургская государственная медицинская академия

**А. Н. Чернов**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики, Оренбургская государственная медицинская академия

**А. А. Вялкова**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской педиатрии, Оренбургская государственная медицинская академия

**В. Ю. Копылов**, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры факультетской терапии и эндокринологии, Оренбургская государственная медицинская академия

## ТУБУЛЯРНАЯ ФЕРМЕНТУРИЯ КАК РАННИЙ МАРКЕР РЕНАЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

*Повышение активности нейтральной  $\alpha$ -глюкозидазы и L-аланинаминопептидазы мочи у больных сахарным диабетом типа I и пациентов с ишемической болезнью сердца непосредственно указывает на вовлечение в патологический процесс проксимальных канальцев нефрона. Ферментурия является ранним и чувствительным маркером повреждения тубулярного эпителия.*

**Ключевые слова:** ферментурия, сахарный диабет типа I, ишемическая болезнь сердца.

Общеизвестно, что почки вовлекаются в патологический процесс при многих широко распространенных заболеваниях. Относительно недавно по предложению National Kidney Foundation (США) был введен термин «хроническая болезнь почек» (ХБП). Это понятие объединяет любые признаки поражения почек, которые могут прогрессировать вплоть до развития терминальной почечной недостаточности. Разработка концепции и классификации ХБП способствует унификации подходов к диагностике, лечению и, что очень важно, профилактике хронической почечной недостаточности (ХПН). В настоящее время интенсивно изучается эпидемиология ХБП, распространенность её различных стадий. По данным регистров (NHANES III, Okinawa Study), распространенность ХБП в общей популяции стабильно высока и составляет не менее 10%, однако в зависимости от полноты учета истинная распространенность ХБП может оказаться еще более высокой.

Наличие ХБП является прогностически неблагоприятным фактором не только за счет развития терминальной почечной недостаточности, но и в связи с высокой частотой сердечно-сосудистых осложнений (хроническая сердечная недостаточность, острый инфаркт миокарда, мозговой инсульт). Кроме того, при 3-й и последующих стадиях ХБП значительно ухудшается прогноз многих

хронических заболеваний и критических состояний.

Неуклонный рост числа больных с хронической почечной патологией, увеличение числа пациентов, которым требуются крайне дорогостоящие методы лечения (постоянный амбулаторный перитонеальный диализ, программный гемодиализ, трансплантация почки), значительная распространенность сниженной скорости клубочковой фильтрации (СКФ) в общей популяции, большая частота сердечно-сосудистых осложнений у больных данной группы позволяют рассматривать ХБП как общепопуляционную проблему.

Проведение заместительной почечной терапии требует значительных затрат, поэтому весьма целесообразным является поиск подходов, позволяющих снизить расходы без вреда для пациента. Проведение комплекса мер по ренопротекции позволяет замедлить прогрессирование нефропатии, отодвинуть начало заместительной почечной терапии, а в ряде случаев даже предотвратить утрату функции почек, причем наибольший экономический эффект достигается при начале нефропротективной терапии на ранних стадиях ХБП. В связи с этим актуальной проблемой является раннее выявление поражения почек.

Для констатации наличия ХБП и определения ее стадии предложены две группы критериев.

К первой группе относится ключевой критерий – величина СКФ. Вторая группа критериев, являющихся основанием для постановки диагноза ХБП, включает такие признаки, как наличие мочевого синдрома и/или изменения, выявленные при визуализирующих методах исследования или при биопсии почки.

Визуализирующие методы и биопсия для использования в качестве скрининговых мало пригодны, ведущую роль в раннем выявлении поражения почек играют лабораторные методы исследования. Они направлены на выявление клубочковых и канальцевых нарушений.

Ключевым маркером состояния клубочкового аппарата является СКФ. К настоящему времени предложено несколько десятков различных методов измерения СКФ, однако из-за сложности и дороговизны большинство данных методов не вошло в широкую практику. В практическом здравоохранении СКФ оценивают по концентрации креатинина сыворотки и результатам пробы Реберга-Тареева, также используют расчетные величины, получаемые с использованием формул (Кокрофта-Голта, MDRD и др.). Следует отметить, что СКФ является очень вариабельным показателем, что обусловлено наличием у здорового человека функционального почечного резерва (ФПР). СКФ 60 мл/мин соответствует гибели более 50% нефронов и свидетельствует о возможности развития ХПН даже при отсутствии клинико-лабораторных признаков заболевания почек. Снижение СКФ менее 60 мл/мин указывает на наличие уже 3-й стадии ХБП, на более поздних стадиях данный показатель прогрессивно уменьшается. Начальные стадии ХБП характеризуются нормальной или повышенной СКФ, поэтому данный параметр применяется для выявления и оценки прогрессирования ХПН, но не может служить ранним маркером поражения почек.

Диагностика ранних стадий ХБП базируется на выявлении аномалий состава мочи. Прогностическая значимость отдельных компонентов мочевого синдрома различна. Более неблагоприятным прогностическим компонентом является протеинурия, которая рассматривается в современной нефрологии как нефротоксический фактор. Наиболее ранним признаком поражения гломерулярного барьера принято считать развитие микроальбуминурии (МАУ) – выделение с мочой минимальных количеств альбумина (в пределах 30–300 мг/сут), которое можно выявить только с помощью специальных методов исследования. Однако появление МАУ является следствием нарушения баланса между процессами клубочковой фильтрации и канальцевой реабсорбции белка [5,6], т.е. МАУ следует рассматривать как результат повреждения всего нефрона, при этом нарушение реабсорбционной способности канальцев является основным компонентом нарастания альбуминурии.

В последние годы в центре внимания исследователей оказались не клубочковые, а интерстициальные изменения почечной ткани и их роль в прогрессировании нефропатии. По данным ряда авторов, снижение почечных функций более тесно коррелирует с тубулоинтерстициальным фиброзом, чем со степенью повреждения клубочков [2,7]. Важная патогенетическая роль в процессе формирования тубулоинтерстициального фиброза принадлежит эпителиальным клеткам канальцев. Тубулярный эпителий подвергается воздействию как факторов первичного повреждения (гипоксия, гипергликемия), так и вторичных факторов, происходящих из гломерулярного ультрафильтрата (протеинурия, хемокины и цитокины, глюкоза, токсины и др.) [9]. Наиболее выраженное повреждающее действие на канальцевый эпителий оказывает протеинурия (липиды, связанные с альбумином, компоненты активированного комплемента, трансферрин) [8]. Уканные компоненты протеинурии действуют со стороны апикальной поверхности на проксимальные тубулярные клетки и вызывают активацию ядерного фактора транскрипции – NFκB, что приводит к синтезу хемотаксических цитокинов (хемокинов), секреции их через базолатеральные отделы тубулярных клеток и диффузии в интерстиций. Повреждение клеток приводит к продукции ими провоспалительных цитокинов и факторов роста, способствует формированию воспалительного инфильтрата из моноцитов и лимфоцитов, появлению интерстициальных миофибробластов и развитию фиброза [10]. Нарушение баланса цитокинов и гиперпродукция факторов роста приводит к развитию дисфункции эндотелиальных клеток, эпителиальных клеток клубочков и канальцев, клеток мезангия. Дисфункция клеток создает условия для развития гломерулосклероза уже на доклинических стадиях нефропатии.

Учитывая важную роль тубулярных клеток в развитии ХБП, особый интерес представляют методы исследования состояния канальцев почек. В настоящее время наиболее доступным тестом является проба Зимницкого. Снижение относительной плотности мочи, отражающее нарушение концентрационной способности почек, нередко развивается раньше, чем снижение СКФ. Определение титруемой кислотности и интенсивности аммионогенеза отражает роль почек в поддержании кислотно-основного равновесия [4].

Диагностическим тестом, позволяющим достаточно рано выявлять повреждение канальцевого аппарата почек, является повышение в моче активности ферментов, локализованных в плазматических мембранах, лизосомах или цитозоле клеток проксимальных канальцев [3]. В практическом здравоохранении данные методы используются не часто, хотя многие авторы указывают на их высокую чувствительность.

В зависимости от глубины повреждения в моче выделяются ферменты, имеющие различную субклеточную локализацию. При незначительном повреждении почечной ткани в моче возрастает активность ферментов, связанных преимущественно с плазматической мембраной, при выраженном повреждении повышается активность цитоплазматических и лизосомальных ферментов, при некрозе клеток увеличивается активность митохондриальных ферментов [1].

Особого внимания заслуживают ферменты щеточной каймы, поскольку их активность меняется уже при незначительном, обратимом повреждении почечной ткани. Для выявления поражения почек наибольший интерес может представлять фермент, имеющий исключительно почечное происхождение – нейтральная  $\alpha$ -глюкозидаза (Н- $\alpha$ -гл). Изменение ее концентрации в моче непосредственно связано с высвобождением данного фермента из поврежденных клеток и коррелирует со степенью поражения почек. Почки являются также основным источником цитозольного фермента L-аланинаминопептидазы (ААП). В нормальной моче активность ААП незначительна, однако при заболеваниях почек значительно возрастает. Сывороточный изофермент появляется в моче только при протеинурии.

Для оценки состояния канальцев нами было проведено определение уровня ферментурии в моче у пациентов с различной патологией. В качестве маркеров повреждения проксимальных канальцев мы использовали экскрецию с мочой ферментов нейтральной  $\alpha$ -глюкозидазы и L-аланинаминопептидазы.

В настоящее время среди причин терминальной почечной недостаточности одну из ведущих позиций занимает сахарный диабет (СД). При СД типа 1 нефропатия развивается у 30–50% больных и довольно быстро приводит к хронической почечной недостаточности. Для выявления ранних поражений почек нами было обследовано 106 детей больных СД типа 1 в возрасте от 3 до 16 лет, без предшествующих заболеваний почек в анамнезе, с впервые выявленным СД и длительностью заболевания от 0,5 года до 12 лет. У пациентов не выявлено снижения СКФ, повышения уровня креатинина сыворотки. Установлено, что у детей, страдающих СД типа 1, имеет место повреждение эпителия проксимальных канальцев, маркерами которого являются повышенные уровни ферментов щеточной каймы ААП и Нейтр- $\alpha$ -Гл в моче. Данные нарушения выявляются уже при манифестации СД (активность Нейтр- $\alpha$ -Гл была повышена в 4 раза, ААП в 3,5 раза), уменьшаются после назначения инсулинотерапии и диеты, а при длительности заболевания более 4 лет наблюдается тенденция к их нарастанию. Выявлено, что у детей, страдающих СД типа 1, повышение активности органоспеци-

фических ферментов Нейтр- $\alpha$ -Гл и ААП в моче наблюдалось как в группе с МАУ, так и у пациентов без МАУ, т.е. признаки повреждения тубулярного эпителия выявляются до развития микроальбуминурии и являются более ранним маркером поражения почек. Показано, что повышение уровня гликемии и увеличение длительности СД способствуют нарастанию тубулярной дисфункции почек. При этом активность ААП в большей мере, чем активность Нейтр- $\alpha$ -Гл, отражает влияние нарушений углеводного обмена (гипергликемии, глюкозурии, кетонурии) на состояние канальцев, тогда как активность Нейтр- $\alpha$ -Гл может являться самостоятельным критерием повреждения ткани почек.

Общеизвестно, что снижение функции почек существенно ухудшает прогноз у больных с хронической сердечной недостаточностью (ХСН), ограничивает возможность применения ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) у данных пациентов. Для оценки состояния канальцев обследовано 79 пациентов, страдающих ишемической болезнью сердца (ИБС) в возрасте от 40 до 77 лет (13 – без ХСН и 66 – с различными стадиями ХСН по классификации ОССН, 2002 г.). При оценке фильтрационной способности почек выявлено, что у больных с ИБС, осложненной СН, происходит нарушение фильтрационной функции почек, сопровождающееся снижением клиренса эндогенного креатинина, начиная со II стадии СН, т.е. у пациентов с застойной СН даже при отсутствии каких-либо клинических признаков ХПН наблюдается нарушение фильтрационной способности почек, выраженность которого увеличивается с утяжелением стадии сердечной декомпенсации. При оценке канальцевой функции выявлено, что активность в моче Нейтр- $\alpha$ -Гл у больных с ИБС без СН достоверно превышает уровень фермента в группе здоровых лиц, что свидетельствует о поражении поверхностных структур канальцев почек (щеточная кайма) еще до развития сердечной декомпенсации. Уже при I стадии сердечной декомпенсации происходит повреждение глубже расположенных структур, что подтверждается увеличением активности ААП в моче. Степень повреждения почечных канальцев зависит от стадии СН: с прогрессированием стадии СН активность Нейтр- $\alpha$ -Гл и ААП достоверно нарастает параллельно тяжести заболевания и достигает своего максимума при СН III, что отражает нарастание повреждения клеток проксимальных канальцев почек. Терапия пациентов ИБС с ХСН без применения иАПФ приводит к улучшению фильтрационной способности почек у больных без СН и при легкой недостаточности сердца (СН I), и улучшению функционального состояния канальцевого аппарата почек, особенно при тяжелой СН (СН II Б – III). При лечении

с применением иАПФ лизиноприла состояние канальцев почек существенно не изменяется при начальных стадиях СН, при тяжелой СН (СН III) сопровождается увеличением ферментурии.

Таким образом, полученные нами данные показывают, что определение уровня ферментурии может быть использовано в качестве одного из ранних маркеров для выявления ренального поражения при различной патологии.

#### *Литература*

1. Лавренова, Т. П. Ферменты мочи и их значение для диагностики поражения почек / Т. П. Лавренова // Лабораторное дело. – 1990. – № 7. – С. 4–10.
2. Ратнер, М. Я. Нарушения канальцевых функций при тубуло-интерстициальном компоненте хронического компенсированного гломерулонефрита и их клиническое значение / М. Я. Ратнер, В. В. Серов, В. А. Варшавский, Б. И. Розенфельд, М. А. Бродский, И. И. Стенина // Тер. архив. – 1982. – № 7. – С. 9–13.
3. Фоменко, Г. В. Клинико-диагностическое значение энзимурии / Г. В. Фоменко, Г. Г. Арабидзе, В. Н. Титов // Тер. архив. – 1991. – № 6. – С. 142–145.
4. Фролов, Б. А. Физиология и патология кислотно-основного состояния / Б. А. Фролов. – М. : Медицина, 1998. – 260 с.
5. Berrut, G. et al. Microalbuminuria as a predictor of a drop in glomerular filtration rate in subjects with non-insulin dependent diabetes mellitus and hypertension / G. Berrut, K. Bouhamck, P. Fabbri // Clin. Nephrol. – 1997. – № 48. – P. 92–97.
6. Berrut, G. et al. Microalbuminuria as a predictor of a drop in glomerular filtration rate in subjects with non-insulin dependent diabetes mellitus and hypertension / G. Berrut, K. Bouhamck, P. Fabbri // Clin. Nephrol. – 1997. – № 48. – P. 92–97.
7. Bohle, A. The pathogenesis of chronic renal failure in diabetic nephropathy. Investigation of 488 cases of diabetic glomerulosclerosis / A. Bohle, M. Wehrmann, O. Bogenschütz, C. Batz, C. A. Müller, G. A. Müller // Pathol Res Pract. – 1991. – № 187. – P. 251–259.
8. Meyer, T. W. Tubular injury in glomerular disease / T. W. Meyer // Kidney Int. – 2003. – № 63. – P. 774–787.
9. Samikkannu, T. Acute effect of high glucose on long-term cell growth: a role for transient glucose increase in proximal tubule cell injury / T. Samikkannu, J. J. Thomas, G. J. Bhat, V. Wittman, T. J. Thekkumkara // Am J Physiol Renal Physiol. – 2006. – № 291(1). – P. 162–175.
10. Segerer, S. Chemokines, chemokine receptors and renal disease: from basic science to pathophysiologic and therapeutic studies / S. Segerer, P. Nelson, D. Schlondorff // J Am Soc Nephrol. – 2000. – № 11. – P. 152–176.