

БЕЛОК ТАММА–ХОРСФАЛЛА — ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ МАРКЕР РАННИХ СТАДИЙ МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ И РЕЦИДИВНОГО КАМНЕОБРАЗОВАНИЯ

УДК 616.613-003.7+616-098

© С. Х. Аль-Шукри¹, Е. Т. Голощапов¹, Ю. В. Эмануэль², М. И. Горбачев¹

¹ Кафедра урологии и ² кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины Санкт-Петербургского Государственного медицинского университета имени акад. И. П. Павлова

⊗ Белок Тамма–Хорсфалла является почечным гликопротеином и впервые был выделен из мочи в 1950 году. В последние годы внимание к этому веществу увеличилось, поскольку выявлена связь между ним и формированием камней при мочекаменной болезни. В статье приведены данные о физико-химических и биологических свойствах белка Тамма–Хорсфалла, позволяющие рассматривать его в качестве потенциального маркера мочекаменной болезни и рецидивного камнеобразования.

⊗ **Ключевые слова:** мочекаменная болезнь; белок Тамма–Хорсфалла; рецидивное камнеобразование.

Нефролитиаз относится к наиболее распространенным и тяжелым урологическим заболеваниям, представляющим серьезную медико-социальную проблему. Характерной особенностью нефролитиаза является склонность к рецидивному формированию конкрементов в мочевых путях. При этом риск и скорость рецидивного камнеобразования неодинаковы у разных больных и обуславливаются особенностями этиологии и патогенеза нефролитиаза у конкретного пациента. В связи с этим весьма важно точно и в полном объеме раскрывать механизмы камнеобразования и разрабатывать патогенетически оправданные методы его профилактики.

Появление таких современных высокотехнологичных методов лечения, как чрескожные нефролитотрипсия и нефролитоэкстракция, дистанционная литотрипсия, люмбоскопические операции, значительно повысили возможности уролога при лечении нефролитиаза. Однако проблема лечения и профилактики мочекаменной болезни не только не решена, но и не может быть решена при использовании только хирургических методов. Формирование конкрементов в мочевых путях является лишь клиническим проявлением нарушенных метаболических процессов в организме. На сегодня не подлежит сомнению, что после хирургического удаления камня и восстановления оттока мочи необходима адекватная и патогенетически оправданная терапия для предупреждения дальнейшего камнеобразования. Однако существенным затруднением для этого является то, что отсутствует какая-то единая причина камнеобразования, а имеет место совокупность многих способствующих ему

факторов. Анализ сложных процессов кристаллогенеза на основе определения элементарных структурных единиц и протекающих в них явлений позволяет определить основные причины камнеобразования. При таком подходе выделяют четыре аспекта камнеобразования: 1) физико-химическая основа процесса, обуславливающая состояния роста, растворения и равновесия в разных комбинациях; 2) факторы, определяющие ход процесса, среди которых наиболее важными являются число фаз и их составы, пересыщение, температура, давление (гидростатическое и стрессовое), дефектность кристаллов; 3) молекулярные и макроскопические механизмы роста и растворения, включающие в себя пограничные процессы захвата кристаллом частиц и адсорбции, объемные процессы диффузии и конвекции в растворе, диффузии и развития напряжений в кристалле; 4) особенности веществ, в которых реализуются эти процессы [3]. Таковы предпосылки возникновения и роста любого кристалла, в том числе и биологического происхождения.

В последние годы большое внимание в контексте изучения причин камнеобразования придают белку Тамма–Хорсфалла (БТХ), или уромудулину. Считают, что БТХ ингибирует кристаллизацию оксалатов *in vitro*, а нарушение его синтеза или снижение активности приводит к усилению этого процесса [10]. Отмечены различия в скорости роста кристаллов оксалатов в зависимости от содержания БТХ [6, 7].

БТХ является специфическим почечным антигеном, экспрессируется на мембранах эпителиальных клеток, выстилающих толстый восходящий участок петли Генле и впервые был выделен из мочи в 1950 году [11]. Это гликопро-

теин с молекулярным весом $1,42 \times 10^6 D$. Сам полипептид с молекулярным весом 85 kD состоит из 616 аминокислотных остатков, среди которых 48 цистеинов, образующих 24 дисульфидных мостика. Белок имеет 8 потенциальных сайтов N-гликозилирования, сосредоточенных в 4 доменах [7], а диаметр гликозилированной макромолекулы составляет около 200 нм [3, 10, 12]. Изoeлектрическая точка чрезвычайно низкая ($pI=3,21$), что связано не только с большим количеством остатков сиаловых кислот — около 5% по массе, но и с высоким содержанием карбоксилированных аминокислотных остатков в самом полипептиде. Локализуется БТХ в дистальных канальцах нефрона. Суточная продукция БТХ составляет 50–150 мг, что определяет его низкую концентрацию в моче. При повышении осмолярности, снижении pH или повышении концентрации БТХ полимеризуется в линейные филаменты диаметром около 4 нм с резкими изгибами через 10–14 нм. Молекулярный вес отдельных филаментов может достигать $7 \times 10^7 D$. При повышении pH до 8,5 филаменты БТХ деградируют до состояния мономеров без потери биохимических свойств. Дальнейшая полимеризация приводит к образованию «пучков» филаментов. Такие «пучки» служат основой для формирования гиалиновых цилиндров [9]. Биологическая роль БТХ чрезвычайно разнообразна. Сообщают об ингибировании вирусов гриппа филаментами БТХ [12], отмечают роль БТХ в воспалительных процессах [6, 10]. Особая роль отводится БТХ в процессе кристаллизации оксалатов и развитии мочекаменной болезни.

В моче около 70% кристаллитов составляют оксалаты кальция (моно- и дигидраты), 10% — фосфаты кальция, от 5 до 10% — трифосфаты натрия и аммония, менее 5% — мочевая кислота и менее 1% — цитрат кальция. При исследовании содержания БТХ при мочекаменной болезни установлено отсутствие в моче больных частиц мономеров БТХ диаметром около 200 нм и наличие только полимерных образований размером порядка микрона [5, 10]. Эти наблюдения подтверждают предположение, что сиалированный БТХ препятствует развитию мочекаменной болезни, а БТХ с дефицитом сиаловых кислот является ее промотором [8, 12]. За счет своего отрицательного заряда молекулы БТХ создают в моче структуры типа «коллоидного матрикса», ингибирующие слипание и рост микрокристаллов оксалатов и, соответственно, развитие мочекаменной болезни. В случае потери зарядов в силу различных причин — десалирования, уменьшения pH, возрастания осмолярности и других — происходит полимеризация БТХ сначала

в филаменты, а затем и в «пучки», которые служат центрами кристаллизации оксалатов, и, таким образом, БТХ становится промотором мочекаменной болезни [4, 12]. В последние годы появились данные, указывающие на то, что органические соединения с высоким содержанием карбоксильных групп препятствуют росту кристаллов оксалатов [5]. Образование мегамолекулярных комплексов БТХ в растворах с высокой ионной силой обратимо. Повышение ионной силы раствора ведет к образованию таких комплексов, ее снижение — к их деградации. Поэтому образование мегамолекулярных комплексов БТХ в растворах с высокой ионной силой может служить маркером уролитиаза на самых ранних, доклинических, стадиях заболевания [1]. Белок Тамма–Хорсфалла выделяют из суточной мочи пациентов с помощью метода светодинамического рассеяния, который позволяет получать гистограммы распределения частиц по размерам в диапазоне от единиц нанометров до десятков микрон при сохранении нативных свойств субстратов. Метод основан на взаимодействии монохроматического когерентного излучения со светорассеивающими частицами исследуемой биологической жидкости. Информация обо всех динамических процессах в изучаемой системе содержится в спектре флуктуаций света, рассеянного на частицах в растворе. Спектр флуктуаций фототока на выходе фотоприемника совпадает со спектром рассеянного света и описывается кривой Лоренца (лоренцианом). Полуширина лоренциана прямо пропорциональна коэффициенту диффузии D , который, в свою очередь, по формуле Эйнштейна–Стокса связан с гидродинамическим радиусом частиц — R_h . Таким образом, можно не только получить информацию о размерах частиц, присутствующих в исследуемом образце, но и следить за динамикой образования и распада макромолекулярных комплексов [6].

В урологической клинике СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова в настоящее время проводится обширное исследование диагностической и прогностической роли БТХ у больных с рецидивирующим билатеральным нефролитиазом. В ходе данного исследования планируется получить точные данные о содержании и длине волн БТХ у данных пациентов, а также подтверждение гипотезы о механизмах развития мочекаменной болезни при нарушениях формирования БТХ, его сиалировании и образовании мегамолекулярных комплексов. Результаты исследования могут стать основой для разработки нового подхода к ранней диагностике уролитиаза, основанного на регистрации образования мегамолекулярных комплексов в моче при увеличении ионной силы раствора, а также новых

фармакологических методик профилактики камнеобразования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аль-Шукри С. Х., Голощапов Е. Т., Эмануэль Ю. В., Горбачев М. И. Новые патогенетические подходы в понимании механизмов литогенеза при билатеральном рецидивирующем нефролитиазе // Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2011. Т. 1. № 4. С. 66–75.
2. Аляев Ю. Г., Кузьмичева Г. М., Руденко В. И., Рапопорт Л. М. Клиническое значение комплексного исследования мочевых камней // Пленум правления Российского общества урологов, Материалы. М., 2003. С. 58–59.
3. Гликин А. Э. Полиминерально-метасоматический кристаллогенез. СПб., Нева, 2004. 320 с.
4. Залеский М. Г. Физико-химические принципы кристаллографических методов в клинической лабораторной диагностике: Автореферат дис. ... канд. мед. наук. СПб., 2006.
5. Захарченко В. М., Хоровская Л. Д., Эмануэль В. Л. и др. Субфракционный состав мочи у больных сахарным диабетом 2 типа при осаждении гликопротеина Тамма–Хорсфалла // Клиническая лабораторная диагностика. 2005. № 27. С. 14–17.
6. Ланда С. Б., Егоров В. В., Чухловин А. Б., Эмануэль Ю. В. Применение метода динамического светорассеяния для исследования обратимых мегамолекулярных комплексов белка Тамма–Хорсфалла и их роли в ранней диагностике уролитиаза // Клинико-лабораторный консилиум. 2008. № 6 (25). С. 33–39.
7. Carvalho M., Mulinari R. A., Nakagawa Y. Role of Tamm–Horsfall protein and uromodulin in calcium oxalate crystallization // Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 2002. Vol. 35, P. 1165–1172.
8. Knorle R., Schnierle P., Koch A. et al. Role in Inhibition and Promotion of Renal Calcium Oxalate Formation Studied with Four-

rier- Transform Infrared Spectro // Clin. Chem. 1994. Vol. 9. P. 1739–1743.

9. Rosenfeld R., Bangio H., Gerwig G. J. et al. Alectin array-based methodology for the analysis of protein // J. Biochem. Biophys. Methods. 2007. Vol. 70. P. 415.
10. Shiraga H., Min W., Vandusen W. J., Claiman M. O. et al. Inhibition of calcium oxalate crystal growth in uropontin: Another member of the aspartic acid-rich superfamily // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1992. Vol. 89. P. 421.
11. Tamm I., Horsfall F. L. Characterisation and separation inhibitor of viral hemagglutination present in urine // Proc. Biol. Med. 1950. Vol. 74. P. 108–114.
12. Wenk E. R., Bhagavan B., Rudert J. Tamm-I Uromucoprotein and the Pathogenesis of Cast. Reflux Nephropc: Nephritis // Pathobiology Annual. 1981. Vol. 11. P. 229–257.

TAMM–HORSFALL PROTEIN — POTENTIAL MARKER OF EARLY STAGES UROLITHIASIS AND STONE RECURENCE

Al-Shukri S., Goloschapov E., Emanuel Yu., Gobachev M.

✧ **Summary.** Tamm–Horsfall protein is renal glycoprotein and was first isolated from urine in 1950. In recent years attention to this matter has increased, since an association between it and the formation of stones in urolithiasis. The paper presents data on physicochemical and biological properties of Tamm–Horsfall protein, allowing it to be regarded as a potential marker of urolithiasis and recurrent stone formation.

✧ **Key words:** urolithiasis; Tamm–Horsfall protein; stone recurrence.

Сведения об авторах:

Аль-Шукри Сальман Хасунович — д. м. н., профессор, зав. кафедрой. Кафедра урологии. Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова. 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 17. E-mail: al-shukri@mail.ru.

Голощапов Евгений Тихонович — д. м. н., профессор. Кафедра урологии. Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова. 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 17. E-mail: goloschapov@mail.ru.

Эмануэль Юлия Владимировна — к. м. н., ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6 / 8. E-mail: ejvcons@mail.ru.

Горбачев Михаил Игоревич — аспирант кафедры урологии. Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова. 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 17. E-mail: mikko85@mail.ru.

Al-Shukri Salman Khasunovich — doctor of medical science, professor, head of the department. Department of Urology. St.-Petersburg State Medical University named after acad. I. P. Pavlov 197022, Saint-Petersburg, Lev Tolstoy st., 17. E-mail: al-shukri@mail.ru.

Goloschapov Evgeniy Tikhonovich — doctor of medical science, professor. Department of Urology. St.-Petersburg State Medical University named after acad. I. P. Pavlov. 197022, Saint-Petersburg, Lev Tolstoy st., 17. E-mail: goloschapov@mail.ru.

Emanuel Yuliya Vladimirovna — candidate of medical science. St.-Petersburg State Medical University named after acad. I. P. Pavlov. 197022, Saint-Petersburg, Lev Tolstoy st., 6/8. E-mail: ejvcons@mail.ru.

Gorbachev Mikhail Igorevich — aspirant. Department of Urology. St.-Petersburg State Medical University named after acad. I. P. Pavlov 197022, Saint-Petersburg, Lev Tolstoy st., 17. E-mail: mikko85@mail.ru.