

ID: 2015-06-1276-R-5296

Обзор

Иноземцева Н.Д., Захарова Н.Б., Россоловский А.Н.

## Значение молекулярных маркеров в изучении эндотелиальной дисфункции у больных МКБ (обзор литературы)

*ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России***Ключевые слова:** эндотелиальная дисфункция, МКБ

В настоящее время в повышении качества хирургического лечения МКБ все большее значение приобретают лабораторные технологии, основанные на исследовании комплекса белков - биомаркеров повреждения паренхимы почек в моче.

Общепринятые лабораторные технологии исследования мочи включают в себя определение цвета, запаха, pH, прозрачности, удельного веса. Определение нехарактерных для нормальной мочи компонентов - аномальное содержание общего белка, концентрации билирубина, глюкозы и др. Наконец, микроскопическое исследование осадка - наличие форменных элементов крови - лейкоцитов, эритроцитов и др. типов клеток. Пробы Каковского-Аддиса, Нечипоренко дают сведения о количестве форменных элементов крови в моче. Пробы Зимницкого и Реберга-Тареева позволяют судить о концентрационной и азотовыделительной функциях почек.

Также широко в диагностике заболеваний почек проводят определение концентраций мочевины, креатинина, мочевой кислоты, специфических белков (микроальбуминов, белка Бенс-Джонса, иммуноглобулинов), гормонов, электролитов, что важно для диагностики некоторых эндокринных заболеваний. В моче определяют активность панкреатической амилазы, гамма-глутамилтрансферазы.

Одним из наиболее известных показателей оценки функции почек является скорость клубочковой фильтрации. Определение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) проводится путем измерения концентрации сывороточного креатинина или клиренса креатинина и расчета значений СКФ по специальным формулам [1-5].

Хорошо известны недостатки данной лабораторной технологии: 1) уровень креатинина варьирует в связи с возрастом, полом, уровнем метаболизма в мышечной ткани, принимаемыми медикаментами, водно-солевым обменом; 2) в диапазоне СКФ от 40 до 90 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> нет пропорциональности между повышением концентрации креатинина и снижением СКФ, то есть ранних стадий снижения СКФ креатинин «не видит»; 3) из-за большого функционального резерва почек концентрация креатинина может не изменяться в случаях, когда большая часть почечной ткани уже не функционирует; 4) при ухудшении клубочковой фильтрации происходит компенсаторное усиление канальцевой секреции креатинина, в результате чего происходит завышенная оценка функции почек; 5) при острых изменениях функции почек изменение содержания сывороточного креатинина происходит спустя два-три дня после первоначального поражения.

Очень важно, что повреждение канальцев способствует потере почечной функции еще при достаточной перфузии в клубочках, когда часть их поверхности сохраняет фильтрационную способность или когда гипертрофия остаточных функционирующих нефронов компенсирует редукцию СКФ [6-9].

В настоящее время специалистами клинической химии в моче и сыворотке крови выделено около 65 биомаркеров мочи для оценки нарушения функции почек и прогрессирования почечной недостаточности. Многие из этих биомаркеров сгруппированы согласно их ассоциации с видом или механизмом повреждения почечной паренхимы (например, участники воспалительного процесса, окислительного стресса, канальцевого повреждения, тубулоинтерстициального фиброза и др.) [10-12].

Доказано, что эпителию мочевыводящих путей принадлежит ведущая роль в развитии повреждения почечной паренхимы. Считается, что эпителиальная клетка реагирует на повреждающие воздействия изменениями на уровне генома. Активация NF-κB сопровождается нарастанием мРНК, обеспечивающего подъем синтеза в клетках медиаторов воспаления - хемокинов, цитокинов и др. В результате последующие метаболические и морфологические изменения развиваются, прежде всего, на уровне мочевыводящих канальцев почки. В эпителиальных клетках происходит переход Na/K-АТФ-азы на апикальную поверхность с последующей активацией процессов ПОЛ, приводящих к некрозу и апоптозу [13-17]. В результате жизнеспособные и нежизнеспособные клетки эпителия выходят в просвет канальцев. Накопление воспалительных медиаторов и повреждение канальцевого эпителия вызывает активацию нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов и образование в интерстициальной ткани почек воспалительных инфильтратов, с последующим развитием интерстициального воспаления и фиброза [18-21].

Биомаркерами данных процессов в настоящее время признано помимо цитокинов большое число молекулярных структур: ангиотензин, тромбоцитарный фактор роста, васкулоэндотелиальный фактор роста, коллаген IV типа, моноцитарный хемоаттрактантный протеин, трансформирующий фактор роста, alpha-glutathion-S-transferase (alpha-GST). К ним также относится NGAL (названный lipocalin - 2 или siderocalin), 25-kD белок, KIM-1, cystatin C или 13-kD - ингибитор протеазы цистеина, NHE3 - фрагмент Na/K АТФ-азы [22-24].

Вместе с тем в настоящее время ни один из «биомаркеров» не отвечает критерию - универсальному показателю повреждения почек. Считается, что только путем разработки диагностических панелей можно обнаружить повреждение почек на ранней стадии (доклинической фазе).

Исследование «маркеров почечного повреждения» может также помочь оценить современные методы лечения для пациентов, установить их эффективность при разных заболеваниях; группы биомаркера могли также использоваться в качестве критериев эффективности лекарственных препаратов в клинических испытаниях; большая часть сыворотки и биомаркеров мочи не уникальны для людей и могут быть обнаружены при разных экспериментальных моделях болезни почек. Исследование биомаркеров позволяет получить как в клинических, так и в экспериментальных исследованиях рентабельную и клинически значимую информацию о механизмах повреждения почечной паренхимы.

Достоверное исследование биомаркеров повреждения почек в сыворотке и образцах мочи зависит от соответствующей типовой обработки. Взятие и обработка образца проводится по строгим протоколам в специальные стерильные системы для взятия мочи.

Проведение небольших клинических исследований, диагностика, развитие заболеваний почек могут быть основаны на сравнительном анализе результатов исследования комбинации биомаркеров в сыворотке и в моче вместе с другими факторами риска, такими как возраст и гипертония [25-27].

Широкое изучение иммуновоспалительных механизмов поражения почек, в частности, большого спектра провоспалительных и профиброгенных молекулярных медиаторов тканевого повреждения, позволило более детально представить значение процессов клеточной пролиферации, накопления и расщепления экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) в развитии фиброзно-склеротических изменений почечной ткани, особенно быстро, при несостоятельности механизмов самозащиты почки (ингибиторов цитокинов, антиоксидантов, белков теплового шока и др.).

Важным итогом этих исследований стало выявление общности многих из названных механизмов повреждения клубочков и интерстиция почек при прогрессирующих нефропатиях [28, 29]. Более того, в последние десятилетия получено подтверждение первостепенного значения тубулоинтерстициального фиброза (ТИФ) как патоморфологической основы прогрессирования почечной недостаточности и роли протеинурии в развитии ТИФ. Установлено, что любое повреждение (иммунные комплексы, токсины, гипоксия, механическое воздействие и т. д.) клеток паренхимы почек приводит к продукции ими медиаторов воспаления (провоспалительных цитокинов и факторов роста), которые обеспечивают приток лейкоцитов и моноцитов в область повреждения и формирование воспалительного инфильтрата [27, 30, 31].

Провоспалительные медиаторы, образующиеся в гломерулах, могут проникать в перитубулярную микроциркуляцию и активировать эндотелиальные клетки, а затем и тубулярные эпителиальные клетки. Провоспалительный гломерулярный ультрафильтрат в некоторых случаях может попадать непосредственно из клубочка в интерстиций через разрывы боуменовой капсулы и вызывать перигломерулярное интерстициальное воспаление и фиброз. Указанные механизмы способствуют распространению процесса воспаления из клубочков в интерстиций, являясь неблагоприятным фактором дальнейшего прогрессирования заболевания.

Одним из наиболее неблагоприятных осложнений развития тубулоинтерстициального поражения почечной паренхимы при калькулезном пиелонефрите становится артериальная гипертония. Она развивается одновременно с ранними стадиями поражения паренхимы почек и связана с неблагоприятными исходами, в частности, с ускоренной потерей функции почек и развитием сердечно-сосудистой патологии [32, 33]. Многочисленные работы последних лет существенно расширили классические представления о сосудистом эндотелии, как об анатомическом барьере, препятствующем проникновению крови в стенку сосудов [34-36]. В настоящее время стало очевидным, что эндотелий сосудов – это активная метаболическая система, поддерживающая сосудистый гомеостаз путем осуществления ряда важнейших функций: модулирования тонуса сосудов; регуляции транспорта растворенных веществ в клетки сосудистой стенки; роста этих клеток, формирования внеклеточного матрикса, защиты сосудов от возможного неблагоприятного воздействия циркулирующих клеток и субстанций; регуляции хемотаксических, воспалительных и репаративных процессов в ответ на локальное повреждение [37-39].

В физиологических условиях эндотелий оказывает определенные вазопротекторные эффекты, подавляя адгезию лейкоцитов и моноцитов, ингибируя миграцию и пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов и агрегацию тромбоцитов. И, наоборот, при дисфункции эндотелий теряет свои антиатеросклеротические и антитромботические свойства в процессе защиты сосудистой стенки [40, 41].

Таким образом, стала формироваться концепция о роли эндотелия, как главного регулятора сосудистого гомеостаза. При этом эндотелий выполняет не только барьерные функции, но также действует как активный преобразователь сигнала для метаболических, гемодинамических и воспалительных факторов, которые изменяют функциональные свойства и морфологические характеристики сосудистой стенки [42, 43].

Несмотря на то, что нормальный эндотелий представляет собой однослойный пласт плоских клеток мезенхимального происхождения, данная ткань является ключевой структурой, регулирующей вазомоторный тонус и реагирующей на ряд факторов, отвечающих за клеточную адгезию, тромборезистентность, пролиферацию гладкомышечных клеток и воспаление сосудистой стенки [44-46]. Влияние на сосудистый тонус достигается за счет продукции эндотелием ряда вазоактивных молекул, отвечающих за вазодилатацию и вазоконстрикцию, а также как ответ на экспрессию циркулирующих в крови вазоактивных медиаторов. Подобная вазомоторная реакция играет ведущую роль в обеспечении тканей кислородом в соответствии с их метаболическими потребностями, а также создает условия для ремоделирования сосудистого русла и, соответственно, адекватной долгосрочной перфузии органа.

Дисфункция эндотелия представляет собой локальную неспецифическую реакцию сосудов, которая выражается дисбалансом факторов, вызывающих их сужение и расширение, а также протромбогенных факторов. Эндотелиальную дисфункцию можно также охарактеризовать, как неадекватное образование в эндотелии различных биологически активных веществ. Считается, что нарушение функции эндотелия является одним из универсальных механизмов формирования многих патологических состояний.

Причинами дисфункции эндотелия могут являться ишемия и гипоксия тканей, артериальная гипертония, гипергликемия, возрастные изменения, эндогенные и экзогенные интоксикации, действие цитокинов и другие местные и общие воздействия. Дисфункция эндотелия может быть самостоятельной причиной нарушения кровообращения в органе, поскольку нередко провоцирует ангиоспазм или тромбоз сосудов [47, 48].

В свою очередь, нарушения регионального кровообращения также могут приводить к дисфункции эндотелия. Так, по данным Ю.М. Есилевского, 2004, присутствие конкремента даже в изолированной чашечке приводит к нарушению микроциркуляции сосочково-чашечной зоны с развитием локальной ишемии, запускающей целый каскад гемодинамических и воспалительных изменений, приводящих в последующем к развитию склеротических процессов в паренхиме почки. При этом ишемические изменения могут происходить как при вазоконстрикции сосудов внутри паренхимы (за счет увеличения содержания ангиотензина II, эндотелина-1 или уменьшения содержания оксида азота), так и при структурных изменениях, нарушающих нормальный

кровоток в почке. Сдвиг равновесия между вазодилататорами и вазоконстрикторами в сторону последних способствует формированию вазоспазма и вносит существенный вклад в прогрессирование ХБП.

Однако роль эндотелия сосудов в прогрессировании заболевания почек недостаточно изучена. При этом в клинических наблюдениях у пациентов с хроническим тубулоинтерстициальным нефритом различной этиологии доказано, что прогрессирование заболевания характеризуется уменьшением массы действующих капилляров, напрямую коррелирующую с тяжестью гломерулосклероза и интерстициального фиброза. Кроме того, снижение плотности перитубулярных капилляров коррелирует с интерстициальным фиброзом и атрофией канальцев, независимо от повреждения более крупных сосудов.

Таким образом, использование в клинической практике у больных с мочекаменной болезнью биомолекулярных диагностических технологий позволит получать детальные представления о развитии патологического процесса, что послужит основой разработки персонализированной лечебной стратегии у данной категории больных.

#### Литература

1. Черешнев В.А., Гусев Е.Ю., Юрченко Л.Н. Системное воспаление как типовой патологический феномен- миф или реальность? Вестн РАН 2004; (3): 18-23.
2. Romagnani P., et al. IP-10 and Mig production by glomerular cells in human proliferative glomerulonephritis and regulation by nitric oxide. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 53-64.
3. Karlson S.J., Renkel J., Tahir A.R., et al. Extracorporeal shockwave lithotripsy versus ureteroscopy for 5- to 10-mm stones in the proximal ureter: Prospective effectiveness patient-preference trial. *J Endourology* 2007; 21(1): 28-33.
4. Kashefi C., Messer K., Barden R., et al. Incidence and prevention of iatrogenic urethral injuries. *J Urol* 2008; 179(6): 2254-7.
5. Wong W., Singh A.K. Urinary cytokines: clinically useful markers of chronic renal disease progression? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001; 6: 807-811.
6. D'Amico G., Bazzi C. Urinary protein and enzyme secretion as markers of tubular damage. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003; 12: 639-643.
7. Esson M.L., Schrier R.W. Diagnosis and Treatment of Acute Tubular Necrosis. *Ann Int Med* 2002; 137(9): 744-752.
8. Esson M.L., Schrier R.W. Diagnosis and Treatment of Acute Tubular Necrosis. *Ann Int Med* 2002; 137(9): 744-752.
9. Ferrera N. Vascular endothelial growth factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 789-791.
10. Lbrahim S., Rashed L. Correlation of Urinary Monocyte Chemo-attractant Protein-1 with other Parameters of Renal Injury in Type-II Diabetes Mellitus. *Saudi J Kidney Dis Transplant* 2008; 19(6): 911-917.
11. Edelstein C.L. Biomarkers of acute kidney injury. *Adv Chronic Kidney Dis* 2008; 15(3): 222-234.
12. Han W.K., et al. Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury. *Kidney Int* 2008; 73: 863-869.
13. Vaidya V.S., Feguson M.A., Bonventre J.V. Биомаркеры острого повреждения почки. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2008; 48: 93-463.
14. Burton C.J., Walls J. Proximal tubular cell, proteinuria and tubulo-interstitial scarring. *Nephrol* 1994; 68: 287-293.
15. Chung N.A., Beevers D.G., Lip G. Effects of losartan versus hydrochlorothiazide on indices of endothelial damage/dysfunction, angiogenesis and tissue factjr in essential hypertensios. *Blood Press* 2004; 13(3): 183-9.
16. Kalluri R., Neilson E.G. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest* 2003; 112: 1776-1784.
17. Strutz F., Neitsen E.G. New insights into mechanisms of fibrosis in immune renal injury. *Springer Semin Immunopathol* 2003; 24: 459-476.
18. Nagatoya K., et al. Y-27632 prevents tubulointerstitial fibrosis in mouse kidneys with unilateral urethral obstruction. *Kidney Int* 2002; 61: 1684-1695.
19. Miyajima A., et al. Antibody to transforming growth factor-beta ameliorates tubular apoptosis in unilateral urethral obstruction. *Kidney Int* 2000; 58: 2301-2313.
20. Allory Y., et al. Sulfated HNK-1 Epitope in developing and mature kidney: a new marker for thin ascending loop of henle and tubular injury in acute tubular necrosis. *J Histochem Cytochem* 2006; 54: 575-584.
21. Taha A.S. Urinalysis for interleukin-8 in the non-invasive diagnosis of acute and chronic inflammatory diseases, Crosshouse Hospital, Scotland, UK. *Postgrad Med J* 2003; 79: 159-163.
22. Goetz D.H., et al. The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. *Mol Cell* 2002; 10: 1033-1043.
23. Benoy I., Salgado R., Colpaert C., et al. Serum interleukin 6, plasma VEGF, serum VEGF, and VEGF platelet load in breast cancer patients. *Clin Breast Cancer* 2002; 2(4): 311-5.
24. Burton C.J., Walls J. Proximal tubular cell, proteinuria and tubulo-interstitial scarring. *Nephrol* 1994; 68: 287-293.
25. Gallagher K.A., Liu Z.J., Xiao M., et al. Diabetic impairments in Nomediated endothelial progenitor cell mobilization and homing are reversed by hyperoxia and SDF-1 alpha. *J Clin Invest* 2007; 117: 1249-59.
26. Dotsenko O., Jahangiri M. Endogenous stem cells in patients undergoing
27. Coronary artery bypass surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2009. doi:10.1016/j.ejcts.2009.04.002.
28. Kang D.H., et al. Impaired angiogenesis in the aging kidney: vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1 in renal disease. *Am J Kidney Dis* 2001; 37: 601-611.
29. Бешлиев Д.А. Опасности, ошибки, осложнения дистанционной литотрипсии. Их лечение и профилактика: дис... д-ра мед. наук. М., 2003: 78-79.
30. Намаканов Б.А., Расулов М.М. Эндотелиальная дисфункция при артериальной гипертензии - фактор риска сердечно-сосудистых осложнений. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика* 2005; (6): 98-101.
31. Манукян М.В. Дистанционная литотрипсия и уретерореноскопическая контактная литотрипсия при лечении больных мочекаменной болезнью с камнями мочеточников: автореф. дис... д-ра мед. наук. Ереван, 2010; 47 с.
32. Топчий І.І., і др. Вплив лікування на активність NO-синтаза та вміст стабільних метаболітів оксиду азоту у хворих на діабетичну нефропатію. *Медицина сьогодні і завтра* 2007; (2): 98-102.
33. Камынина С.А. Комбинированное оперативное лечение кораллового нефролитиаза: дисс. канд. мед. наук. М., 2004; 200 с.
34. Аляев Ю.Г., и др. Клиническое значение исследования химического состава мочевых камней. *Врач* 2007; (6): 112-114.
35. Дутов В.В. Современные аспекты лечения некоторых форм мочекаменной болезни: дис... д-ра мед. наук. М., 2000: 78-80
36. Пак Л.Г., Лурье Л.А. Уро-Ваксом в профилактике и лечении рецидивирующих инфекций мочевыводящих путей (обзор литературы). *Рус мед журн* 2004; 12(8): 541-547.
37. Loebig M., Klement J., Schmolter A., et al. Evidence for a relationship between vegf and bmi independent of insulin sensitivity by glucose clamp procedure in a homogenous group healthy young men. *PLoS One* 2010; 7: 5.
38. Bates D.O., Hillman N.J., Williams B. et al. Regulation of microvascular permeability by vascular endothelial growth factors. *J Anat* 2002; 200(6): 581-597.
39. Ватутин Н.Т., Калинкина Н.В., Демидова А.Л. Эндотелины и сердечно-сосудистая патология. *Укр кардіол журн* 2006; (1): 101-106.
40. Мартов А.Г. Перкутанная эндохирургия кораллового нефролитиаза. I Российский конгресс по эндохирургии. М. 2008: 197-198.

41. Нанчикеева М.Л., Остапущенко О.С., Гладкая К.Г. и др. Эндотелиальная дисфункция у больных гипертонической болезнью. Сборник тезисов XVI Российского национального конгресса «Человек и лекарство», 2009: 193-194.
42. Петрищева Н.Н. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2003; 184 с.
43. Biselli P.M., Guerzoni A.R., de Godoy M.F., et al. Vascular endothelial growth factor genetic variability and coronary artery disease in Brazilian population. *Heart Vessels* 2008; 23(6): 371-5.
44. Shibuya M. Vascular endothelial growth factor receptor-1: a dual regulator for angiogenesis. *Angiogenesis* 2006; 9: 225-230.
45. August Ph. Overview: mechanisms of hypertension: cells, hormones, and the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 1971-1973.
46. Furuichi K., et al. Gene therapy expressing amino-terminal truncated monocyte chemoattractant protein-1 prevents renal ischemia-reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1066-1071.
47. Борисов В. В., Дзеранов Н. К. Мочекаменная болезнь. Терапия больных камнями почек и мочеточников. М., 2011: 87.
48. Мухин Н.А., Тареева И.Е., Шилов Е.М. Диагностика и лечение болезней почек. М.: Геотар-Мед, 2002; 384 с.