

УДК 616.61+616.056

Взаимосвязь между экскрецией β_2 микроглобулина и функциональным состоянием проксимального отдела нефрона у детей с амилоидной нефропатией и без нее

Е.Б.Киракосян

*Университетская клиника “Мурацан”
0046, Ереван, ул. Мурацана, 114*

Ключевые слова: периодическая болезнь, амилоидоз, β_2 микроглобулин, морфология, функции почек

Велика роль оценки функционального состояния почек для выявления тяжести почечного поражения, а также его прогноза и выбора лечебной тактики. Функционально-морфологический анализ выявил клиническое и дифференциально-диагностическое значение различных расстройств почечных функций при гломерулонефрите, пиелонефрите, почечной недостаточности и др. [15]. Многие авторы стремились как можно полнее проводить функционально-морфологические сопоставления, применяя современные функциональные тесты и методы морфологического исследования биоптатов почек [13,14].

По мнению Н.А.Мухина с соавт. [9,10] и Козловской Л.В. [7], состояние канальцевых функций может играть определённую диагностическую роль при разграничении этих заболеваний. Особое внимание при проведении дифференциального диагноза уделяется способности к осмотическому концентрированию мочи, несколько меньшее значение придаётся способности почек регулировать кислотно-щелочное равновесие внутренней среды организма.

По данным литературы, амилоидозу свойственна тяжёлая атрофия эпителия дистальных канальцев и склероз стромы, что приводит к выраженным канальцевым дисфункциям. Это дало повод предположить, что атрофия эпителия дистальных канальцев и склероз стромы могут проявляться канальцевыми дисфункциями или значительным нарушением отдельных канальцевых процессов [1,17].

Сравнительный анализ клинико-лабораторных и функциональных изменений при нефропатии у больных в его различных стадиях может способствовать разработке вопросов ранней диагностики амилоидоза при данном заболевании. О функциональном состоянии почек при амилоидозе публиковались лишь единичные сообщения, и то у взрослых при вторич-

ном амилоидозе [7,9,16]. В отечественной педиатрической практике имеются единичные работы [4-6,12], в связи с чем представлялось целесообразным сопоставить у больных с амилоидозом почек некоторые показатели ренальных функций (клубочковая фильтрация, функциональное состояние проксимального и дистального отделов канальцев, функции почек по концентрированию, ацидоаммиогенезу, азотовыделительной – уровень креатинина и мочевины в сыворотке крови) и определить зависимость полученных показателей от стадии заболевания и степени морфологических изменений и отложения амилоида. Отложение амилоида в мозговом слое может привести к полиурии, затруднению реабсорбции воды в собирательных трубках, канальцевому ацидозу, неподдающимся бикарбонатам.

Исследование канальцевых функций могло бы способствовать созданию дифференциально значимых тестов для разграничения амилоидоза почек и гломерулонефрита, одновременно выявлению ранних признаков поражения почек, особенно в доклинической стадии нефропатии. По данным Б.И.Шулутко [16], нет корреляции между степенью отложения амилоида в клубочках и нарушением функции почек, особенно фильтрационной и азотовыделительной. Вовлечение интерстиция в патологический процесс при амилоидозе встречается часто [16]. В интерстиции встречаются не только отложения амилоидных масс в стенке канальцев, сосудов, а также самого интерстиция, но и неспецифическая вторичная реакция, проявляющаяся отёком, клеточной инфильтрацией (чаще лимфоидной), ранним развитием склероза [6].

В связи с этим выявляется раннее нарушение концентрационной способности почек. Снижение относительной плотности мочи встречается у подавляющего числа больных амилоидозом в протеинурической и, тем более, в нефротической стадии (НС) заболевания. Однако в литературе появляются сообщения о том, что нарушение канальцевой функции отмечается у больных с транзиторной протеинурией (концентрационная и функции по ацидоаммиогенезу). По мнению авторов, снижение концентрационной способности обусловлено присоединением тубуло-интерстициального компонента (ТИК) к амилоидозу [5,6].

Для раннего выявления поражения проксимального отдела канальцев исследовали экскреции с мочой β_2 микроглобулина (МГ).

Впервые низкомолекулярный белок β_2 МГ в моче был выделен в 1968г. Berggard и Veam у людей с тубулярной протеинурией. β_2 МГ имеет молекулярную массу 11800Да, не содержит углеводов, состоит из цепи полипептидов, включающей 100 аминокислотных остатков и имеющей дисульфидную связь [18]. Установлено, что в физиологических условиях β_2 МГ синтезируется эпителиальными, мезангиальными и лимфоидными клетками [19,20].

β_2 МГ свободно проникает через базальную мембрану клубочков в первичный фильтрат и почти полностью (на 99,9%) реабсорбируется клетками эпителия проксимальных канальцев. Поглощается он путём пиноцитоза с последующим переносом белка в лизосомальные структуры и расщеплением его до аминокислот. Лишь очень незначительное количество подвергается расщеплению до аминокислот и выводится с мочой.

Отсутствие в литературе комплексных исследований, посвящённых изучению β_2 МГ, как функционального теста при амилоидозе у детей, послужило основанием для настоящей работы. Об информативности теста при различных заболеваниях почек свидетельствует ряд авторов [2,3,8]. Значительное повышение содержания β_2 МГ в моче при преимущественном поражении проксимального отдела канальцев позволяет использовать этот показатель в качестве теста при дифференциальной диагностике между инфекцией мочевых путей (ИМП) и пиелонефритом, амилоидозом и гормоночувствительной формой нефротического синдрома, что имеет также важное практическое значение [18].

Канальцевая протеинурия связана с неспособностью проксимальных канальцев реабсорбировать плазменные низкомолекулярные белки, профильтрованные в нормальных клубочках. Характерным признаком тубулярной протеинурии является преобладание β_2 МГ над альбумином, а также отсутствие высокомолекулярных белков. Канальцевая протеинурия наблюдается при интерстициальном нефрите, пиелонефрите, выраженных тубулопатиях, в литературе имеется единственное сообщение о тубулярной протеинурии при амилоидозе [18]. При этом авторы доказывали, что нет достоверных различий между гормонозависимыми формами нефротического синдрома и амилоидозом при ПБ, очевидно, выраженная экскреция β_2 МГ у этих больных связана с наличием также массивной протеинурии.

Целью настоящего исследования являлось определение функционального состояния проксимального сегмента нефрона при амилоидной нефропатии и роли нарушения этой функции для раннего выявления поражения почек доклинической стадии нефропатии.

Материал и методы

При выполнении данной работы нами были проведены клинико-лабораторные исследования у 33 детей с амилоидной нефропатией и без нее с различными клиническими формами ПБ в различных стадиях (транзиторная протеинурия и протеинурическая стадия). Возраст детей колебался от 5 до 18 лет. Мальчиков было 16, девочек 17. Функционально-компенсированные стадии болезни выявлены у всех детей. Всем больным проводилось УЗИ органов мочевой системы и внутренних органов. Помимо общеклинических и специальных методов, в комплекс обследования

входило определение суточной экскреции форменных элементов (лейкоцитов, эритроцитов) и белка по Каковскому-Аддису, протеинограммы, холестерина, мочевины, креатинина. Определение β_2 МГ в моче производилось посредством набора ORG 5BM Beta-2-Microglobulin, согласно приложенной инструкции.

Величину клубочковой фильтрации определяли по клиренсу эндогенного креатинина, регуляция кислотно-щелочного равновесия осуществлялась при помощи аммонийной пробы в модификации Б.О.Овезова [11]. О способности канальцев к осмотическому концентрированию судили по величине относительной плотности мочи в пробе Зимницкого и сухоедения. В соответствии с классификацией амилоидной нефропатии в её начальном периоде у наблюдаемых больных мочевого синдром проявлялся в виде изолированной протеинурии (иногда с микрогематурией и лейкоцитурией). Возраст детей колебался от 5 до 18 лет.

Результаты и обсуждение

По клинико-лабораторным проявлениям больные были разделены на 4 группы.

В контрольную (К) группу входили 5 детей с различными клиническими формами ПБ, протекающей без нефропатии. Возраст при исследовании составлял $13,1 \pm 0,1$ лет. Абдоминальная форма ПБ документирована у 3 детей (60,0%), реже смешанная форма – у 2 (40,0%). Первые признаки ПБ отмечены в возрасте $3,2 \pm 0,1$ лет, мальчиков было 2, девочек – 3. У этих детей не наблюдалось нарушения гломерулярных и тубулярных функций почек.

I группу составили 13 детей, у которых экскрецию β_2 МГ определяли после приступа ПБ. Мальчиков было 6, девочек – 7. Возраст детей при исследовании составил $12,5 \pm 0,75$ лет. Первые признаки ПБ выявлены в возрасте $3,2 \pm 0,2$ лет. У этих больных отсутствовал мочевого синдром.

Абдоминальная форма отмечена у 8 детей (61,5%), у 5 больных – смешанная форма (38,4%). Как в первой группе, так и во второй функциональных нарушений со стороны почек не отмечено.

II группу составили 9 (из них биопсированы 3) детей с ПБ, у которых установлено поражение почек в виде протеинурии транзиторного характера. Мальчиков было 7, девочек – 2. Возраст при исследовании в среднем составил $10,1 \pm 0,2$ лет. Возраст при манифестации ПБ составлял $3,8 \pm 0,2$ лет. Первые признаки нефропатии в виде протеинурии различной степени выраженности отмечены до 5-летнего возраста от начала ПБ у 3 (33,3%), у остальных 6 (66,6%) старше 5 лет. Мочевого синдром проявлялся протеинурией, иногда в сочетании с лейкоцитурией (у 3) и микрогематурией (у 2). Суточная экскреция протеинурии составила $0,12 \pm 0,04$ г/сут. Абдоминальная форма отмечена у 6 (66,6%), реже смешанная – у 3 (33,3%).

Нарушение концентрационной функции почек отмечено у 5 (55,5%) и колебалось от 1020 до 1010, составляя в среднем $1019 \pm 3,2$. Нарушение функций почек по ацидоаммиогенезу выявлено у 3 детей (33,3%), при этом аммонийный коэффициент колебался от 40,2 до 61,5%. У 2 (22,2%) больных отмечено нарушение клубочковой фильтрации ниже 80 мл/мин, составляя в среднем $72,3 \pm 2,5$ мл/мин.

III группа включала 6 (из них биопсированы 5) детей с ПБ, у которых документирована протеинурическая стадия амилоидоза почек. Мальчиков было 2, девочек – 4, возраст больных при исследовании составил $11,5 \pm 0,7$ лет. Первые признаки манифестации ПБ отмечены в возрасте $3,5 \pm 0,7$ лет. Абдоминальная форма отмечена у 4 детей (66,6%), смешанная – у 2 (33,3%). Первые признаки нефропатии в виде протеинурии выявлены в возрасте 5 лет от начала заболевания у одного ребёнка (16,6%), у остальных 5 детей (83,3%) – старше 5 лет. Нарушение концентрационной способности почек отмечено у 4 (66,6%), у 2 наблюдалось ее ограничение (33,3%) и колебалось от 1020 до 1021.

Нарушение функций почек по ацидоаммиогенезу отмечено у 3 (50%), при этом аммонийный коэффициент колебался от 50 до 61,2%, составляя в среднем $58,6 \pm 2,3\%$. Нарушение фильтрационной функции почек отмечено у 4 (66,6%), составляя в среднем $70 \pm 1,2$ мл/мин.

Экскреция β_2 МГ у детей с различными клиническими формами ПБ без нефропатии составляла в среднем $0,3 \pm 0,1$ мг/мл. У детей с наличием нефропатии в виде протеинурии транзиторного характера экскреция β_2 МГ составляла в среднем $0,83 \pm 0,02$ мг/мл, т.е. отмечается достоверная разница по сравнению с результатами детей без нефропатии ($p < 0,001$).

У детей со стойкой протеинурией (6) выявлена более выраженная экскреция β_2 МГ по сравнению с предыдущими группами, составляя в среднем $2,05 \pm 0,01$ мг/мл ($p < 0,05$). Особый интерес представляет группа детей, у которых экскреция β_2 МГ определялась после приступа ПБ (у 13). Экскреция β_2 МГ в несколько раз больше, чем в остальных группах ($p < 0,001$), составляя в среднем $2,2 \pm 0,01$ мг/мл (таблица).

Таблица

Количество β_2 МГ в моче у детей с амилоидной нефропатией и без нее

Группа детей с ПБ		Число больных	Количество β_2 МГ в моче (в мг/мл)	
К	ПБ без поражения почек	5	$0,3 \pm 0,1$	
Г	ПБ после приступа	13	$2,2 \pm 0,01$	$p^{2:1} < 0,001$
П	ПБ с транзиторной протеинурией	9	$0,83 \pm 0,02$	$p^{3:1} < 0,001$
III	Протеинурическая стадия	6	$2,05 \pm 0,01$	$p^{4:1} < 0,001$

При сравнении вышеизложенных данных детей с транзиторной протеинурией с данными, полученными при гистологическом исследовании нефробиоптата, выявлена полиморфность гистологических изменений – от мезангиальных изменений до склероза. У всех детей отсутствовал амилоид в почечных структурах. Были найдены различной интенсивности (слабые и умеренные) очагово-сегментарные мезангиопролиферативные изменения, невыраженная тубулярная дистрофия с некробиозом и некрозом части эпителиальных клеток и нерезкий склероз (невыраженный) интерстиция мозгового слоя, эквивалентом которого является нарушение парциальных функций почек, а именно: функций почек по концентрированию и ацидоаммиогенезу.

У детей с протеинурической стадией нефропатии обнаружены амилоидные массы 1/3 – 2/3 клубочков, вне отложения амилоида в клубочках имелись мезангиопролиферативные изменения (от слабого до умеренного), а также тубулярная дистрофия с некрозом и некробиозом эпителия канальцев и нерезкий склероз интерстиция мозгового слоя с лимфогистоцитарными инфильтрациями интерстиция. Морфологически выявлялись признаки нарушения функций гломерулярного (реже) и тубулярного аппарата с нарастанием экскреции β_2 МГ в моче.

Следовательно, для протеинурической стадии, помимо симптомов и клинических проявлений основного заболевания, характерно развитие амилоидоза почек, морфологически выявляемого в виде дистрофии канальцевого эпителия и склероза интерстиция с резким нарушением функций проксимального отдела нефрона наряду с нарастанием экскреции β_2 МГ.

Выявленные изменения, вероятно, обусловлены нарушением транспорта и катаболизма белка в проксимальном сегменте нефрона.

Таким образом, повышение содержания β_2 МГ в моче свидетельствует о нарушении функции проксимального отдела нефрона, являясь одним из наиболее ранних и чувствительных показателей его функциональной недостаточности, и может способствовать ранней топической диагностике почечных поражений, в частности, диагностике повреждения эпителия канальцев. Для диагностической цели и раннего выявления морфологических изменений почек β_2 МГ необходимо включить в комплекс исследования при ПБ и амилоидной нефропатии. Наши данные соответствуют данным U.Saatci et al., которые предполагают возможность развития у отдельных больных поражения клубочков и тубулярного аппарата во время приступа и с дисфункцией тубулярного отдела транзиторного характера при манифестации ПБ [22].

По литературным данным, уровень β_2 МГ в моче или его экскреция с мочой в условиях нарушения функции почек достоверно выше, чем у больных с сохранённой функцией ($p < 0,05$).

Уровень исследуемого протеина в моче у детей без поражения почек ниже, чем у детей с транзиторной и протеинурической стадией нефропатии ($p < 0,005$), и количество β_2 МГ возрастает после приступа. Возможно, это связано с более выраженным повреждением эпителия проксимального сегмента нефрона, приводящим к нарушению процессов реабсорбции исследуемого белка с последующим повышением экскреции его с мочой.

Исследование экскреции β_2 МГ с мочой может служить скрининг-тестом для определения тубулярной протеинурии, так как увеличение экскреции является чувствительным и точным методом определения нарушения реабсорбции и катаболизма протеинов в проксимальных канальцах при амилоидозе почек. Количественные исследования β_2 МГ в моче должны быть частью функционального исследования канальцев для применения в диагностике при амилоидной нефропатии минимальных тубулярных поражений почек.

При тубулярных заболеваниях без понижения клубочковой фильтрации уменьшение способности канальцевых клеток катаболизировать низкомолекулярные белки компенсируется увеличением их экскреции с мочой. Даже у детей без мочевого синдрома наличие β_2 МГ выше нормы – важная находка для ранней диагностики амилоидной нефропатии.

Анализ результатов исследования в зависимости от стадии нефропатии позволяет рассматривать β_2 МГ как один из чувствительных маркеров поражения канальцевого эпителия, а также тяжести амилоидной нефропатии, о чем свидетельствуют как морфологические изменения, так и нарушения гломерулярных (клубочковых) и канальцевых функций.

Поступила 31.03.15

β_2 միկրոգլոբուլինների և նեֆրոնի պրոքսիմալ հատվածի ֆունկցիոնալ վիճակի փոխկապակցվածությունը ամիլոիդ նեֆրոպաթիայի դեպքում և առանց այն

Հ.Բ.Կիրակոսյան

Պարբերական հիվանդության տարբեր ձևերով տառապող 33 երեխայի մոտ, որոնց մոտ առկա էր կամ բացակայում էր ամիլոիդ նեֆրոպաթիան, հետազոտվել է β_2 միկրոգլոբուլինների (β_2 ՄԳ) էքսկրեցիան:

Հետազոտության արդյունքում պարզվել է, որ β_2 ՄԳ-ի մակարդակը մեզում ավելի բարձր է պարբերաբար կրկնվող և կայուն սպիտամիզության, ինչպես նաև պարբերական հիվանդության նոպաների ժամանակ, քան ստուգիչ խմբում ($p < 0,001$):

Այս հետազոտության արդյունքները վկայում են նեֆրոնի պրոքսիմալ հատվածի վաղ ախտահարման մասին, նույնիսկ այն երեխաների մոտ, որոնց մոտ առկա չէ միզային համախտանիշը:

Այսպիսով, β_2 ՄԳ-ի քանակի որոշումը հանդիսանում է ավելի վաղ շրջանի զգայուն թեստերից մեկը, որը հնարավորություն է տալիս ենթադրել նեֆրոնի պրոքսիմալ հատվածի դիսֆունկցիայի առկայության մասին:

Interaction between β_2 microglobulins excretion and functional state of the proximal section of nephron in children with and without amyloid nephropathy

H.B. Kirakosyan

The study of 33 children with different forms of periodic disease (PD) the excretion of β_2 microglobulins (β_2 MG) was studied. It was established that the β_2 MG levels in urine were higher in recurrent and stable proteinuria as well as during paroxysms, in comparison with the control ($p < 0,01$).

The results obtained testify to the early affection of the proximal section of nephron, even in patients without urinary syndrome.

Thus, β_2 MG level assessment is a highly sensitive test which gives the opportunity to reveal nephron's proximal section dysfunction at the early stage of its development.

Литература

1. *Бокарев И.Н., Козлова Т.В., Шило В.Ю.* В кн.: Мочевой синдром (дифференциальная диагностика и лечение). М., 2009.
2. *Виторг Дж.А., Лоренса Дж.Р.* В кн.: Руководство по нефрологии. М., 2000.
3. *Возианов А.Ф., Майданик В.Г., Багдасарова И.В.* В кн.: Основы нефрологии детского возраста. Киев, 2002.
4. *Киракосян Б.Е.* Клинико-иммуноморфологические проявления поражений почек и состояние гемостаза у детей с ПБ. Дис... докт.мед.наук, М., 1992.
5. *Киракосян Е.Б., Киракосян Б.Е., Погосян К.П. и др.* Состояние канальцевых функций при амилоидозе почек у детей. III международный конгресс Армении "Вместе во имя здоровья", Ереван, 2011, с.357-358.
6. *Киракосян Е.Б., Киракосян Б.Е., Погосян К.П. и др.* Тубуло-интерстиционный компонент у детей с амилоидной нефропатией в стадии транзиторной протеинурии при ПБ. Сборник мат. VIII национального научно-медицинского конгресса "Здоровье человека", Ереван, 2013, с.324-327.
7. *Козловская Л.В.* В кн.: Нефрология. Национальное руководство. М., 2009, с.272-286.
8. *Ларенышева Р.Д.* Клиническое значение β_2 МГ. Обзор литературы. Вопр.охраны материнства и детства, 1980, 11, с.43-48.
9. *Мухин Н.А., Серов В.В., Козловская Л.В.* В кн.: Нефрология. Под ред. Е.Тареевой, М., 2000, с.546-561.

10. Мухин Н.А., Тареева И.Е., Шилов Е.М., Козловская Л.В. В кн.: Диагностика и лечение болезней почек, М., 2008.
11. Овезов Б.О. Нарушение тубулярных функций почек при хроническом гломерулонефрите и пиелонефрите. Урология и нефропатия, 1968, 3, с.8-13.
12. Папазян М.М. Клинико-генетические параллели при амилоидозе почек у детей с ПБ. Дис...канд.мед.наук, Ереван, 2003.
13. Ратнер М.Я., Серов В.В., Томилина Н.А. В кн.: Ренальные дисфункции (клинико-морфологическая характеристика). М., 1977.
14. Тареев Е.М. Хронический гломерулонефрит. В кн.: Основы нефрологии. Под ред. Е.М.Тареева, т.1,М., 1972, с.196-234.
15. Чижев А.С., Петров С.Н., Ящиковская Г.А. и др., В кн.: Практическое руководство по нефрологии. Минск, 2001.
16. Шулуток Б.И. В кн.: Болезни почек. СПб., 1995, с.373-384.
17. Эмануэль В.А. Лабораторная диагностика заболеваний почек. СПб., 2006.
18. Akkus S., Coliskan S. The Turkish J. of Pediatrics, 2002, vol.44, p.317-320.
19. Beggard I., Bearn A.G. J. Biol. Chem., 1968, vol.243, p.4095-4103.
20. Poulik M.D., Bernoco M., Beruco D. et al. Science, 1979, vol. 181, p.1352-1355.
21. Poulik M.D., Bloom A.D. J. Immunol., 1973, vol. 110, p.1430-1433.
22. Saatci U., Ozdemiz S., Ozen S. et al. Arch. Dis. Child., 1994, vol. 70, p.27-29.