

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616-092:612.017.1]-07:616.61-008.1

Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Чашкова Е.Ю., Коротаева Н.С., Богородская С.Л.

СПОСОБ ОЦЕНКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧЕК ПРИ АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», 664003, Иркутск, Российская Федерация

Почки являются одним из основных гомеостатических органов, участвующих в регуляции концентрации осмотически активных веществ, ионного состава и кислотно-щелочного равновесия, в поддержании объема жидкости внутренней среды организма, выполняющих экскреторную функцию. Исследование мочи широко применяется в лабораторной практике для выявления различных патологических состояний. Целью настоящего исследования явилась разработка простого, доступного и экономичного способа оценки функционального состояния почек у больных соматическими заболеваниями, выявление раннего нарушения их функции и своевременное проведение коррекции. Исследование проведено на 78 пациента, из них 58 с воспалительными заболеваниями кишечника (язвенный колит, болезнь Крона), 20 практически здоровые люди (волонтеры).

Предлагаемый метод основан на определении суммарного пула метаболитов в суточной моче пациентов. На спектрофотометре в диапазоне длин волн 210–300 нм определяют основные группы метаболитов мочи. Избыточное количество патологических компонентов, оказывающих токсическое действие и нарушающих гомеостаз внутренней среды организма, выявляется при определении суммарной оптической плотности. Ее величина 130 усл. ед., а также сумма оптической плотности в интервале 210–230 и 270–290 нм, равная 10 и 7 усл. ед. соответственно, свидетельствуют о нарушении клубочкового и канальцевого аппарата почек.

Ключевые слова: функциональное состояние почек; пул метаболитов; оптическая плотность.

Для цитирования: Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Чашкова Е.Ю., Коротаева Н.С., Богородская С.Л. Способ оценки функционального состояния почек при аутоиммунных заболеваниях. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61 (5): 286-288. DOI 10.18821/0869-2084-2016-61-5-286-288

Kuznetsova E.E., Gorokhova V.G., Tchashkova E.Yu., Korotaeva N.S., Bogorodskaya S.L.

THE MODE OF EVALUATION OF FUNCTIONAL CONDITION OF KIDNEYS UNDER AUTOIMMUNE DISEASES

The Irkutskii research center of surgery and traumatology, 66444003 Irkutsk, Russia

The kidneys are one of main homeostatic organs participating in regulation of concentration of osmotic active substances, ionic composition and acid-base balance, in maintenance of volume of fluid of internal medium of organism fulfilling excretory function. The analysis of urine is largely applied in laboratory practice for detecting different pathological conditions. The actual study was organized to develop simple, accessible and economic mode of evaluation of functional condition of kidneys in patients with somatic diseases, detection of their early dysfunction and timely implementation of adjustment. The study was carried out on sampling of 78 patients: 58 persons with inflammatory diseases of intestine (ulcerous colitis, Crohn's disease) and 20 healthy persons (volunteers). The proposed technique is based on detection of total pool of metabolites in day urine of patients. The spectrophotometer is applied to detect main groups of metabolites of urine within range of wavelength 210-300 nm. The excess amount of pathologic components, toxically effecting and affecting homeostasis of internal medium of organism, is detected under establishment of total optical density. Its value is ≥ 30 standard unit and also sum of optical density within range 210-230 and 270-290 nm, equal 10 and 7 standard units correspondingly testify presence of glomerular and tubular apparatus of kidneys.

Key words: functional condition of kidneys; pool of metabolites; optical density

For citation: *Kuznetsova E.E., Gorokhova V.G., Tchashkova E.Yu., Korotaeva N.S., Bogorodskaya S.L. The mode of evaluation of functional condition of kidneys under autoimmune diseases. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2016; 61 (5): 286-288. (in Russ.)*

DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-5-286-288

For correspondence: *Bogorodskaya S.L.*, candidate of biological sciences, senior research worker of laboratory of cellular pathophysiology and biochemistry. e-mail: sbogorodskaya@mail.ru

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Financing. *The study had no sponsor support*

Received 01.10.2015
Accepted 15.12.2015

Введение. Функциональное состояние почек отражает способность совокупности почечных функций обеспечивать гомеостаз внутренней среды организма.

Для корреспонденции: Богородская Светлана Леонидовна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», 664003, Иркутск, sbogorodskaya@mail.ru

В основе многообразных функций почек лежат процессы осморегуляции; участие в регуляции объема крови и внеклеточной жидкости; регуляции ионного состава крови; регуляции кислотно-щелочного состояния; экскреции конечных продуктов азотистого обмена, органических соединений и чужеродных веществ; регуляции артериального давления и эритропоэза [1]. Наиболее актуальным представляется мониторинг ранних пораже-

ний почек у пациентов, длительно (зачастую пожизненно) получающих базисные лекарственные препараты.

Цель исследования — разработка простого, доступного и экономичного способа оценки функционального состояния почек.

Известен общеклинический анализ мочи, проводимый всем больным и включающий изучение ее физических свойств, химического состава и микроскопическое исследование осадка [2].

К недостаткам вышеприведенного способа следует отнести его низкую селективность, так как при одинаковых физических характеристиках он не выявляет пул токсических веществ, характеризующих токсическое свойства мочи.

Наиболее близким по технической сущности к предлагаемому способу является химическое исследование мочи, которое проводят тест-полосками, предназначенными для экспресс-определения компонентов мочи. При этом происходит специфическое окрашивание специальных индикаторных зон. Определяемые тест-полосками компоненты мочи включают: уробилиноген, билирубин, кетоновые тела, аскорбиновую кислоту, глюкозу, общий белок, нитриты, кровь (эритроциты), лейкоциты, удельный вес и pH (кислотность) мочи [3]. Вышеприведенный способ имеет низкую специфичность, так как у пациентов, моча которых имеет щелочную реакцию, высокий удельный вес, а также у пациентов, принимающих лекарства, содержащие хинины или хинолины, получают ложноположительные и/или ложнозавышенные результаты. Заниженные результаты могут быть обусловлены присутствием детергентов на стенках посуды для сбора мочи. Обнаруженное повышение содержания белка с использованием тест-полосок не всегда свидетельствует о нарушении работы почек, а может быть обусловлено высокой физической нагрузкой либо лихорадочным состоянием пациента [4].

Перечисленные выше способы не выявляют пула метаболитов, свидетельствующего о нарушении функции почек.

Материалы и методы. Предлагаемая методика основана на определении суммарного пула метаболитов в суточной моче пациента как показателя функционального состояния почек. На спектрофотометре в диапазоне длин волн 210—300 нм определяют основные группы метаболитов мочи, присущие как практически здоровым, так больным людям, у которых, как правило, регистрируются повышенные показатели экстинкции в спектре.

Установлено, что избыточное количество патологических компонентов, оказывающих токсическое действие и нарушающих гомеостаз внутренней среды организма, содержится в общем пуле метаболитов и выявляется по суммарной оптической плотности ≥ 30 усл. ед., а также по сумме показателей оптической плотности в интервале 210—230 и 270—290 нм. Клинические исследования свидетельствуют о том, что использование предлагаемого способа позволяет оценить функциональное состояние почек, выявить ранние нарушения их функции и обеспечить возможность коррекции под наблюдением нефролога.

Собранную суточную мочу перемешивают и при удельном весе выше 1,020 пробу мочи разводят дистиллированной водой до удельного веса менее 1,020. Далее расчеты проводят с учетом разведения. Затем 5—7 мл мочи центрифугируют при 3000 об/мин 10 мин. Затем забирают 1 мл центрифугата, добавляют 1 мл ацетонитрила, центрифугируют 30 мин при 3000 об/мин. После чего отбирают надосадочную жидкость, которую вносят

в дистиллированную воду в соотношении 1:9, перемешивают и спектрофотометрируют в интервале длин волн 210—300 нм с шагом в 10 нм, после чего рассчитывают суммарную оптическую плотность по формуле:

$$\sum_{210-300} = \text{ОП}_{210} + \text{ОП}_{220} + \text{ОП}_{230} + \text{ОП}_{240} + \text{ОП}_{250} + \text{ОП}_{260} + \text{ОП}_{270} + \text{ОП}_{280} + \text{ОП}_{290} + \text{ОП}_{300}$$

где: $\sum_{210-300}$ — суммарная оптическая плотность в условных единицах; ОП₂₁₀ — величина оптической плотности при λ 210 нм; ОП₂₂₀ — величина оптической плотности при λ 220 нм; ОП₂₃₀ — величина оптической плотности при λ 230 нм; ОП₂₄₀ — величина оптической плотности при λ 240 нм; ОП₂₅₀ — величина оптической плотности при λ 250 нм; ОП₂₆₀ — величина оптической плотности при λ 260 нм; ОП₂₇₀ — величина оптической плотности при λ 270 нм; ОП₂₈₀ — величина оптической плотности при λ 280 нм; ОП₂₉₀ — величина оптической плотности при λ 290 нм; ОП₃₀₀ — величина оптической плотности при λ 300 нм.

При величине общей суммы оптических плотностей ($\sum_{210-300}$) ≥ 30 усл. ед. и при сумме оптической плотности пиков в интервале длин волн 210—230 нм ($\sum_{210-230}$) ≥ 10 усл. ед. (область поглощения промежуточных соединений метилированных аминокислот и серосодержащих продуктов) и в интервале 270—290 нм ($\sum_{270-290}$) ≥ 7 усл. ед. (область поглощения продуктов триптофана и фенольных соединений) устанавливают нарушение клубочкового и канальцевого аппарата почек.

Таким образом, получают обзорную групповую информацию о составе образца мочи из спектра с диапазоном длин волн от 210 до 300 нм, где фиксируются основные группы метаболитов (вещества средней и низкой молекулярной массы).

Следует отметить, что в работах, посвященных поражению почек, подчеркивается важнейшая роль белков, вовлеченных в повреждение почечных канальцев и подоцитов [5]. Методом мембранной ультрафильтрации нами было установлено, что эту белковую фракцию представляют соединения молекулярной массы до 3000 Да. Это олигопептиды (ди-, три-, тетра-, пента- и др.) с высоким содержанием дикарбоновых аминокислот, лизина, цистеина, глицина [6, 7]. Они биологически очень активны, оказывают ингибирующее действие на целый ряд метаболических процессов: дыхание митохондрий, синтез ДНК в гепатоцитах и лимфоцитах [8], синтез и утилизацию глюкозы, синтез гемоглобина [9]. Под действием пептидов средней молекулярной массы уменьшается фильтрационная способность эритроци-

Спектральные характеристики супернатантов мочи

Группа	Суммарная оптическая плотность		
	при 210—300 нм	при 210—230 нм	при 270—290 нм
Пациенты с воспалительными заболеваниями кишечника (n = 58)	235,3±62,3 $p_u < 0,05$	116,7±29,7 $p_u < 0,05$	41,7±6,9 $p_u < 0,05$
Волонтеры (n = 20)	17,7±3,4	6,4±0,9	4,8±1,1

Примечание. Данные в таблице представлены в виде значений средней со стандартной ошибкой; p_u — достоверность различий (при сравнении с волонтерами) по критерию Манна—Уитни.

тов, нарушаются процессы транспорта аминокислот, выведение креатинина, транспорт ионов в почках, процессы перекисного окисления липидов в головном мозге [10]. Сопоставление результатов фракционирования пептидов с помощью хроматографических методов показало, что наблюдается значительное варьирование их состава не только в зависимости от характера патологии, обусловившей их появление, но и в пределах группы заболеваний, не различимых по традиционным клиническим критериям [11]. Таким образом, все вышеперечисленное показывает, насколько важно измерение оптической плотности исследуемой мочи в диапазоне длин волн 210—220 нм, позволяющее оценить уровень вышеуказанных олигопептидов.

Анализ эффективности предлагаемого способа проведен на основании проспективного изучения результатов обследования пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника (язвенным колитом и болезнью Крона) в период 2010—2015 гг.

Проведено исследование суточной мочи 78 человек. Их них 58 пациентов с воспалительными заболеваниями толстой кишки (язвенный колит, болезнь Крона), 20 — практически здоровые люди (волонтеры).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с применением пакета программ Statistica for Windows 6.0. Сравнение групп осуществляли при помощи непараметрического критерия Манна—Уитни (p_u). Значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Полученные данные спектральных характеристик супернатантов мочи всех обследованных больных представлены в таблице.

Суммарная оптическая плотность мочи ($\Sigma_{210-300}$) у пациентов с воспалительными заболеваниями толстой кишки значительно превышала таковые значения у здоровых волонтеров ($\Sigma_{210-300}$ 235,3±62,3 усл. ед., $\Sigma_{210-230}$ 116,7±29,7 усл. ед., $\Sigma_{270-290}$ 41,7±6,9 усл. ед.). Необходимо отметить, что в 96,4% случаев у данных пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника в общеклинических анализах мочи значимых изменений не наблюдалось.

Изменения секреторно-экскреторной функции почек в обследуемой группе пациентов подтверждались данными динамической сцинтиграфии. В 53,3 и 67,9% случаев диагностированы нарушения экскреторной функции левой и правой почек соответственно, при этом в 15,3 и 21,8% случаев изменения экскреторной функции носили значительно выраженный характер. В 47,2 и 52,1% случаев отмечены нарушения секреторной функции левой и правой почки соответственно, в 10,25 и 13,8% случаев диагностированы выраженные нарушения.

Таким образом, показатель суммы оптической плотности метаболического пула суточной мочи свидетельствует о ранней функциональной несостоятельности почек.

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тареева И.Е., ред. *Нефрология: практическое руководство*. 2-е издание. М.: Медицина; 2000.

2. Меньшиков В.В., ред. *Лабораторные методы исследования в клинике*. М.: Медицина; 1987.
3. Инструкция по использованию тест-полосок «CombiScreen 11 SYS». Лихтенфельс: Analyticon® Biotechnologies AG; 2010.
4. Данилова Л.А., Башарина О.Б., Красникова Е.Н., Литвиненко Л.А., Раменская Н.П. *Справочник по лабораторным методам исследования*. СПб.: Питер; 2003.
5. Шюк Ота. *Функциональное исследование почек*. 2-е издание. Прага: Авицenum; 1981.
6. Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Чашкова Е.Ю., Коротаева Н.С., Горохов А.Г., Григорьев Е.Г. *Способ определения функционального состояния почек*. Патент РФ № 2440580; 2012.
7. Горохова В.Г., Кузнецова Э.Э., Горохов А.Г., Рунович А.А. Исследование состава белкового-пептидного комплекса фетальной ткани человека и ювенильных тканей кролика. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2004; (4): 423—5.
8. Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Малинин В.В. *Пептидные тимомиметики*. СПб.: Наука; 2000.
9. Чипенс Г.И., Полевая Л.К., Веретенникова Н.И., Крикис А.Ю. *Структура и функции низкомолекулярных пептидов*. Рига: Зинатне; 1980.
10. Тупикова З.А. Среднемолекулярные уремические токсины. *Вопросы медицинской химии*. 1983; (1): 2—10.
11. Савченко Н.Е., Остапенко В.А. и др. Концепция применения экстракорпоральных методов детоксикации крови. *Актуальные проблемы гемосорбции. Труды II Московского ордена Ленина государственного медицинского института им. Н.И. Пирогова. Серия: Хирургия*. 1980; (32): 46—62.
12. Лышманов Ю.Б., Чернов В.И., ред. *Радионуклидная диагностика для практических врачей*. Томск: STT; 2004.

Поступила 01.10.15

REFERENCES

1. Tareeva I.E., ed. *Nephrology: a Practical Guide [Nefrologiya: prakticheskoe rukovodstvo]*. 2nd ed. Moscow: Meditsina; 2000. (in Russian)
2. Men'shikov V.V., ed. *Laboratory Methods of Research in Clinic [Laboratornye metody issledovaniya v klinike]*. Moscow: Meditsina; 1987. (in Russian)
3. Teststreifen «Combi-Bildschirm 11SYS». Anleitung. Lichtenfels: Analyticon® Biotechnologies AG; 2010. (in German)
4. Danilova L.A., Basharina O.B., Krasnikova E.N., Litvinenko L.A., Ramenskaya N.P. *Reference Laboratory Methods [Spravochnik po laboratornym metodam issledovaniya]*. St.Petersburg: Piter; 2003. (in Russian)
5. Shyuk Ota. *Funktsional'noe Issledovanie Pochek*. 2-e izdanie. Praga: Avitsenum; 1981. (in Czech)
6. Kuznetsova E.E., Gorokhova V.G., Chashkova E.Yu., Korotaeva N.S., Gorokhov A.G., Grigor'ev E.G. *A Method for Determining Renal Function*. Patent RF № 2440580; 2012. (in Russian)
7. Gorokhova V.G., Kuznetsova E.E., Gorokhov A.G., Runovich A.A. Investigation of the composition of the protein-peptide complex fetal tissue and human tissue juvenile rabbit. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2004; (4): 423—5. (in Russian)
8. Morozov V.G., Khavinson V.Kh., Malinin V.V. *Peptide Timomimetiki [Peptidnye timomimetiki]*. St. Petersburg: Nauka; 2000. (in Russian)
9. Chipens G.I., Polevaya L.K., Veretennikova N.I., Krikis A. Yu. *Struktura i Funktsii Nizkomolekulyarnykh Peptidov*. Riga: Zinatne; 1980. (in Latvian)
10. Tupikova Z.A. Middle molecular uremic toxins. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1983; (1): 2—10. (in Russian)
11. Savchenko N.E., Ostapenko V.A. et al. The concept of the use of extracorporeal blood detoxification. *Aktual'nye problemy gemosorbtsii. Trudy II Moskovskogo ordena Lenina gosudarstvennogo meditsinskogo instituta imeni N.I. Pirogova. Seriya: Khirurgiya*. 1980; (32): 46—62. (in Russian)
12. Lishmanov Yu.B., Chernov V.I., eds. *Radionuclide Diagnostics for Practitioners [Radionuklidnaya diagnostika dlya prakticheskikh vrachey]*. Tomsk: STT; 2004. (in Russian)

Received 01.10.15