© Коллектив авторов, 2004

Т.П. Макарова, С.В. Мальцев, Е.В. Агафонова, В.С. Валиев

НАРУШЕНИЕ ОБМЕНА ЦИНКА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТАХ НЕФРОПАТИЙ У ДЕТЕЙ

Казанский государственный медицинский университет,
Казанская государственная медицинская академия, г. Казань, РФ

Проведено изучение обмена цинка у 310 детей с различными вариантами нефропатий — дисметаболическая нефропатия (ДМН), тубулоинтерстициальный нефрит (ТИН), пиелонефрит (ПН) и мочекаменная болезнь (МКБ). Выявлено снижение содержания сывороточного Zn, сопровождающееся его повышенной экскрецией. Дефицит экскреторного типа нарастает в ряду ДМН<ТИН<ПН, отражая тяжесть патологического процесса в тубулоинтерстициальной ткани почек. Высокий уровень Zn в сыворотке крови является кофактором литогенности и способствует формированию МКБ. Выявлено влияние повышенной экскреции Zn на функциональное состояние тубулярной части нефрона (как проксимальных, так и дистальных канальцев). Отмечено, что показатели иммунологического гомеостаза подвержены депрессивному воздействию дефицита Zn: прежде всего, это касается клеточного звена иммунитета и фагоцитарной активности нейтрофилов.

Authors studied zinc (Zn) metabolism in 310 children with different nephropathies — dysmetabolic nephropathy (DMN), tubulointerstitial nephritis (TIN), pyelonephritis (PN), kidney stone disease (KSD). Decreased level of serum Zn accompanied by its increased urinary excretion was demonstrated. Degree of excretory deficiency increased in series DMN<TIN<PN, reflecting severity if tubulointerstitial process in kidneys. Increased serum Zn is co-factor of stone formation and assists to KSD development. Authors showed influence of increased Zn excretion upon functional state of nephron tubular part (both proximal and distal tubules). They noted that parameters of immunologic homeostasis — first of all cellular immunity and neutrophyles phagocytic activity are prone to depressive influence of Zn deficiency.

В последние годы все большее внимание нефрологов привлекают нарушения микроэлементного гомеостаза, как важнейшего фактора формирования нефропатий у детей [1—5]. Цинк (Zn) — важнейший эссенциальный микроэлемент (МЭ), участвующий в синтезе нуклеиновых кислот, белков и энергетическом обмене, занимает особое место в ряду незаменимых МЭ [4—8]. В литературе имеются отдельные публикации, посвященные обмену Zn при почечной патологии [1, 2, 4, 5, 9, 10]. Важнейшие обобщенные выводы при их анализе — концентрация Zn в сыворотке крови положительно коррелирует с уровнем клубочковой фильтрации [9], общим белком сыворотки крови при уремии [2, 9], концентрацией альбуминов при хроническом гломерулонефрите (ХГН) [5]. Снижение концентрации Zn при ХГН проявляется повышенной цинкурией и является неблагоприятным прогностическим признаком [5]. Однако в литературе отсутствуют обобщенные характеристики нарушений гомеостаза Zn при важнейших заболеваниях почек у детей; требуют более подробного изучения механизмы формирования почечных дисфункций, индуцируемые нарушением метаболизма данного МЭ.

В работе Жаворонкова А.А. [5] при описании Zn-дефицитных состояний выделены 3 фракции Zn: комплексированная с α_2-макроглобулином, глобулиновая и ультрафильтруемая, связанная с белками малой молекулярной массы. Увеличение последней фракции сопровождается цинкурией и является основой развития Zn-дефицитных состояний [3]. Иммуномодулирующее влияние Zn широко изучено как в экспериментальных, так и клинических исследованиях [8, 10—14], показано его широкое влияние на многие звенья иммунной системы. Это касается как функционирования клеток, обеспечивающих неспецифический иммунитет, так и нарушения важнейших функций Т-лимфоцитов — активация и экспрессия дифференцировочных антигенов — и В-лимфоцитов — продукция антител, особенно IgG. Выраженное модулирующее влияние Zn на различные звенья иммунитета определяет актуальность изучения причинно-следственных взаимосвязей между нарушениями гомеостаза Zn и показателями иммунологической реактивности при различных формах нефропатий у детей.

Целью наших исследований явилось изучение обмена Zn при различных вариантах нефропатий у детей в комплексе с функциональным состоянием почек и показателями иммунологической реактивности.

Материалы и методы исследования

Под наблюдением находились 300 детей в возрасте от 3 до 14 лет с различными вариантами нефропатий, среди которых 91 ребенок с оксалатной и 17 — с уратной дисметаболической нефропатией (ДМН), 35 детей — с тубулоинтерстициальным нефритом (ТИН), 130 — с хроническим пиелонефритом (ПН), 25 — с мочекаменной болезнью (МКБ). Контрольную группу составили 40 детей того же возраста.

Исследование концентрации Zn в биосредах (сыворотка крови, моча) проводили методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии, рассчитывали почечные клиренсы и экскретируемые фракции. Функциональное состояние почек оценивали по уровню клубочковой фильтрации (клиренс эндогенного креатинина), содержанию остаточного азота и мочевины в крови, суточной экскреции аминоазота, проценту реабсорбции фосфатов. Функции дистальных канальцев определяли по уровню аммиака и титруемых кислот. Концентрационную функцию почек оценивали в пробе мочи по Зимницкому. Дисметаболические нарушения устанавливали по наличию и характеру кристаллурии, суточной экскреции оксалатов, содержанию мочевой кислоты в сыворотке крови, кальция и фосфора в крови и моче. Клиренс кальция и фосфора рассчитывали по формулам О. Шюк (1981), тубулярную реабсорбцию фосфатов — по формуле B. Nordin (1970).

Показатели иммунологической реактивности определяли в реакции прямой иммунофлюоресценции с подсчетом количества клеток: $CD3^+$ (Т-лимфоциты), $CD4^+$ (Т-хелперы-индукторы), $CD8^+$ (Т-цитотоксические), $CD19^+$ (В-лимфоциты), $CD16^+$ — естественные киллеры (NK-клетки); результаты реакции оценивали с помощью проточной цитофлюориметрии («Fascan Calibur»). Содержание Ig классов A, G и M определяли методом турбидиметрии, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) — методом ПЭГ-преципитации (Haskova et al., 1978). Изучение фагоцитарной активности нейтрофилов включало НСТ-тест в спонтанном (НСТ сп.) и индуцированном вариантах (НСТ инд.) в модификации Виксмана М.Е. и Маянского А.Н. (1979) с определением индекса активации нейтрофилов (ИАН сп., ИАН инд.) и функции поглощения патогенов (в качестве тест-объекта использовали 2-миллиардную взвесь *St. aureus*) — изучали фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ) и фагоцитарный резерв (ФР). Для статистической обработки полученных данных использовали параметрические методы, включавшие корреляционный, регрессионный и факторный анализ (Ойвин И.А., 1960).

Результаты и их обсуждение

Данные по содержанию Zn в сыворотке крови, моче, оценки почечных механизмов его обмена при различных вариантах нефропатий представлены в табл. 1. Как видно из данных табл. 1, в группе больных ДМН отмечено достоверное снижение концентрации Zn в сыворотке крови, что сопровождалось повышением его клиренса и экскретируемой фракции. Нарушение обмена Zn и формирование Zn-дефицитного состояния при данной патологии обусловлено увеличением ультрафильтруемой фракции и определяемой ею цинкурией, что свидетельствует в пользу экскреторного типа дефицита данного МЭ. При анализе изменений концентрации Zn в зависимости от формы ДМН у детей с оксалатной ДМН по сравнению с больными уратной ДМН выявлено достоверное снижение Zn в сыворотке крови (0,791±0,02 и 0,913±0,0755 мкг/мл; $p<0,05$) и достоверное увеличение клиренса Zn (0,47±0,066 и 0,30±0,05 мл/мин; $p<0,05$). В группе детей с уратной ДМН отмечена лишь тенденция к изменению данных показателей. Таким образом, более глубокое нарушение метаболизма Zn, связанное с повышенной его экскрецией, выявлено при оксалатной форме ДМН.

У детей с ТИН отмечено достоверное повышение клиренса, экскреции и экскретируемой фракции Zn по сравнению как с контрольной группой, так и с группой больных ДМН, что свидетельствует о более выраженных нарушениях экскреции Zn при данной патологии. Изменение показателей, определяющих данный тип нарушений гомеостаза Zn, имело место и при ПН, однако достоверной разницы между больными ТИН и ПН не выявлено, что свидетельствует об однотипных нарушениях гомеостаза Zn и усугублении тяжести дефицита экскреторного типа, характерного для тубулоинтерстициальных поражений почек в отличие от обменных нефропатий.

При сравнении концентраций Zn в биосредах в зависимости от вариантов ПН (табл. 2) выявлено, что максимально низкие концентрации в сыворот-

Таблица 1

Содержание Zn в сыворотке крови и суточной моче, клиренс и экскретируемая фракция Zn у детей с нефропатиями

Показатели	Контрольная группа (n=40)	ДМН (n=110)	ТИН (n=35)	ПН (n=130)	МКБ (n=25)
Zn крови, мкг/мл	0,927±0,03	0,805±0,02**	0,753±0,01***	0,737±0,019***	0,925±0,055
Zn мочи, мкг/мл	0,286±0,035	0,326±0,021	0,378±0,01*	0,393±0,027*	0,418±0,05*
Клиренс Zn, мл/мин · 1,73 м^2	0,29±0,03	0,43±0,036**	0,46±0,07*	0,71±0,02***	0,58±0,11*
Экскретируемая фракция Zn, %	0,23±0,03	0,35±0,03**	0,37±0,03**	0,35±0,016***	0,43±0,08*

Здесь и в табл. 2 и 3: достоверность различия показателей по сравнению с контрольной группой: *$p<0,05$; **$p<0,01$; ***$p<0,001$.

Таблица 2

Содержание Zn в сыворотке крови и суточной моче, клиренс и экскретируемая фракция Zn у детей с различными формами ПН

Показатели	Контрольная группа (n=40)	ВДНП (n=40)	ВДОПН (n=57)	ВОПН (n=33)
Zn крови, мкг/мл	0,927±0,03	0,777±0,044**	0,757±0,024**	0,678±0,042***
Zn мочи, мкг/мл	0,286±0,035	0,383±0,026*	0,419±0,035**	0,464±0,023**
Клиренс Zn, мл/мин · 1,73 м^2	0,29±0,03	0,338±0,032*	0,459±0,03**	0,617±0,042***
Экскретируемая фракция Zn, %	0,23±0,03	0,31±0,035	0,46±0,028***	0,51±0,0336***

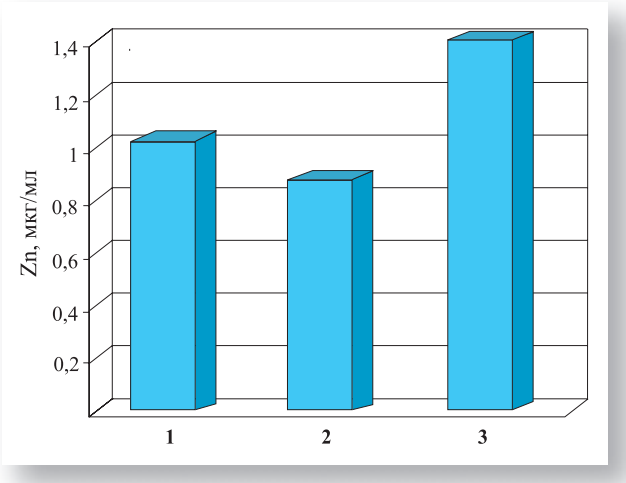

Рисунок. Концентрация Zn в сыворотке крови у больных МКБ.
1 — контрольная группа, 2 — МКБ с ПН, 3 — МКБ без ПН.

ке крови, а также наиболее высокие в суточной моче и максимальные показатели клиренса отмечены у больных с вторичным обструктивным ПН (ВОПН) по сравнению с детьми, у которых был вторичный дисметаболический (ВДПН) и вторичный обструктивный и дисметаболический (ВДОПН) ПН. Дефицит Zn экскреторного типа, таким образом, наиболее выражен при обструктивном варианте хронического ПН, что отражает тяжесть патологического процесса в тубулоинтерстициальной ткани почек.

При анализе гомеостаза Zn при МКБ выделены 2 группы больных — осложненная и не осложненная ПН МКБ (см. рисунок). Средняя концентрация Zn в сыворотке крови при МКБ в целом не отличалась от показателей контрольной группы (0,952±0,055 мкг/мл; $p>0,05$) (табл. 1). При этом экскреция Zn с мочой, его клиренс и уровень экскретируемой фракции были достоверно повышены, что свидетельствовало в пользу ренального типа экскреции данного МЭ. Концентрация Zn в сыворотке крови у детей с МКБ, не осложненной ПН, была достоверно выше (1,32±0,068 мкг/мл), чем у детей с МКБ, осложненной ПН (795±0,05 мкг/мл; $p<0,001$), что подтверждает активное вовлечение данного МЭ в процессы камнеобразования, доказанное в ряде работ [6]. Повышенная концентрация Zn в сыворотке крови, видимо, является неблагоприятным прогностическим признаком литогенности, так как наряду с активацией кристаллизации он является одним из модуляторов реабсорбции и секреции веществ в почках [8, 15]. Снижение концентрации Zn у больных с сопутствующим ПН может быть объяснимо с позиций потребления Zn на реализацию активного воспалительного процесса в тубулоинтерстициальной ткани почек.

При изучении функционального состояния почек при ДМН выявлено нарушение в основном функции проксимальных канальцев, выражающееся гипераминоацидурией и повышением клиренсов кальция и фосфора. При ТИН, ПН и МКБ отмечено углубление канальцевой недостаточности: достоверно снижаются реабсорбция фосфатов и концентрационная функция, нарушаются процессы ацидо- и аммониогенеза.

Методами математического моделирования с расчетом регрессионных моделей выявлено патологическое воздействие повышенной экскреции Zn на функции проксимальных канальцев при уровне экскреции 0,368 мкг/мл: патологическое воздействие реализуется на процессы снижения реабсорбции фосфатов ($r=-0,78$; $p<0,05$) и уровень аминоацидоурии ($r=0,67$; $p<0,05$) у детей с ТИН. Данная закономерность выявлена и при нарастании экскреции Zn у детей с ПН и МКБ. При повышении экскреции Zn до уровня 0,395 мкг/мл отмечено его влияние на функциональное состояние дистальных канальцев: нарушение аммонио- ($r=-0,89$; $p<0,05$) и ацидогенеза ($r=-0,69$; $p<0,01$).

Анализ данных по изучению иммунного статуса показал (табл. 3), что у детей с ДМН отмечено снижение содержания Т-лимфоцитов преимущественно за счет популяции Т-хелперов как относительных, так и абсолютных значений. Кроме того, отмечено достоверное снижение относительного содержания супрессоров — цитотоксических клеток. Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов проявлялось снижением ФИ.

Таблица 3

Показатели иммунологической реактивности у детей с нефропатиями

Параметры	Контрольная группа (n=20)	ДМН (n=31)	ТИН (n=25)	ПН (n=33)
Лимфоциты, %	37,3±1,64	45,6±2,9*	41,5±2,5	45,6±2,3**
Лейкоциты, $\cdot 10^9$/л	6,23±0,25	5,95±0,17	5,96±0,96	5,95±0,18
CD3, %	73,7±1,02	54,9±2,97***	50,3±4,33***	49,5±1,71***
CD3, $\cdot 10^9$/л	1,67±0,11	1,28±0,12*	1,25±0,1**	0,93±0,062***
CD4, %	44,9±1,18	32,0±1,38***	31,6±2,75***	31,2±1,4***
CD4, $\cdot 10^9$/л	0,99±0,065	0,76±0,077*	0,65±0,021***	0,59±0,011**
CD8, %	28,9±0,96	20,1±1,21***	17,5±2,9***	16,2±0,89***
CD8, $\cdot 10^9$/л	0,69±0,065	0,56±0,055	0,48±0,024**	0,21±0,031***
CD16, %	10,3±0,37	13,6±2,52	8,7±0,8	5,76±0,62***
CD16, $\cdot 10^9$/л	0,3±0,044	0,25±0,034	0,21±0,02	0,16±0,012**
CD19, %	10,1±0,39	10,9±0,88	12,4±1,35	13,2±1,51
CD19, $\cdot 10^9$/л	0,29±0,021	0,25±0,034	0,28±0,053	0,35±0,03
IgA, г/л	1,94±0,099	2,38±0,3	1,4±0,25*	1,12±0,015***
IgG, г/л	12,7±0,29	11,2±0,54	14,5±1,11	17,3±0,6***
IgM, г/л	2,23±0,073	2,12±0,17	1,9± 0,39	1,72±0,1***
ЦИК, ед. опт. плот.	0,039±0,0009	0,038±0,002	0,049±0,002**	0,055±0,002***
Комплемент, ед.	62,4±1,95	65,9±2,72	55,5±2,72*	44,1±2,39***
НСТ сп., %	10,4±0,61	15,7±3,17	18,7±1,17**	23,5±1,5***
НСТ инд., %	52,6±1,94	62,5±3,31*	47,0±1,4*	43,3±1,2***
ФИ	78,5±4,54	62,1±3,67**	46,2±1,01***	43,3±1,01***
ФЧ	2,0±0,15	2,06±0,17	1,66±0,28	1,53±0,11*
ИАН сп.	0,25±0,04	0,35±0,042	0,45±0,06**	0,55±0,05***
ИАН инд.	0,65±0,055	0,89±0,054**	0,55±0,055	0,42±0,03***
ИРИ	1,65±0,1	1,60±0,22	1,83±0,28	1,92±0,15
ФР, %	42,2±5,1	50,5±6,0	28,3±2,7*	19,8±2,3***

У детей с ТИН отмечено более выраженное снижение содержания Т-лимфоцитов и Т-хелперов и достоверное снижение абсолютного количества субпопуляций Т-супрессоров. Гуморальный иммунитет характеризовался гипокомплементемией, снижением содержания IgA, умеренным повышением ЦИК. Нарушение фагоцитарной активности нейтрофилов характеризовалось достоверным снижением ФИ и нарушением внутриклеточной биоцидности по НСТ-тесту.

При развитии ПН углубляется снижение количественного содержания CD3+, CD4+ и CD8+ клеток как по относительным, так и по абсолютным показателям. Кроме того, выявлено достоверное снижение относительного и абсолютного содержания NK-клеток ($CD16^+$). При ПН отмечено достоверное снижение содержания IgA, нарастание гипокомплементемии, повышение содержания неспецифических IgG. Повышение содержания ЦИК, по-видимому, определяется формированием неэффективных антибактериальных IgG-содержащих иммунных комплексов. Отмечено углубляющееся нарушение внутриклеточной биоцидности нейтрофилов и достоверное снижение ФР.

При изучении взаимовлияний между уровнем Zn в сыворотке крови и показателями иммунной системы у детей с ТИН и ПН выявлены прямые корреляции между его содержанием и уровнем Т-лимфоцитов ($r=0,54$; $p<0,05$) и Т-хелперов ($r=0,69$; $p<0,05$). При ПН отмечено нарастание иммунопатологических моновлияний дефицита Zn на популяции иммунокомпетентных клеток: характерным для ПН является иммунодепрессивное воздействие на количественное содержание NK-клеток ($r=0,65$; $p<0,05$). По данным литературы, доказана роль Zn в образовании гормонов тимуса, преимущественно тимулина

[13, 14], данный МЭ потребляется на регенерацию $CD4^+$-лимфоцитов [14], истощение субпопуляции которых реализуется в условиях хронического воспаления [15], Zn потребляется также и на поддержание популяции цитолитических клеток [16]. Влияние Zn на образование ключевых иммунологических медиаторов проявляется в виде его участия в основных клеточных функциях типа репликации ДНК, транскрипции РНК, деления и активации клеток [7, 14].

Важнейшим показателем активного воспалительного процесса является уровень С-реактивного протеина — одного из важнейших белков острой фазы. Методом регрессионного анализа выявлена обратная взаимосвязь между уровнем Zn и С-реактивного протеина в сыворотке крови детей с ТИН и ПН, что может отражать потребление данного МЭ на выработку медиаторов воспаления. По данным литературы, ранняя фаза острого воспалительного ответа (выработка интерлейкинов 1 и 6) сопровождается снижением содержания Zn в сыворотке крови [7, 13]. По мнению Shankar A.H. и Prasad A.S. [14], Zn также потребляется в процессах антиоксидантной защиты. По данным Ripa S. и Ripa R. [14], изменение иммунологической реактивности идет параллельно со снижением сывороточной концентрации Zn. Таким образом, выраженное снижение концентрации Zn в сыворотке крови у больных ТИН и ПН объяснимо с позиций повышенного его потребления на реализацию активного воспалительного процесса и поддержание адекватного иммунного ответа в ответ на асептическое или микробное воспаление почечной ткани [7, 12—14]. Дефицит Zn при хроническом воспалительном процессе в тубулоинтерстициальной ткани почек приобретает, таким образом, новое качество и может быть идентифицирован, наряду с экскреторным, как дефицит потребления на реализацию иммунологического ответа.

При изучении взаимовлияний между уровнем Zn и фагоцитарной активностью нейтрофилов у детей с ТИН выявлены прямые корреляции между содержанием Zn в сыворотке крови, количеством работающих фагоцитов ($r=0,54$; $p<0,05$) и резервным потенциалом клетки (НСТ инд.: $r=0,67$; $p<0,05$; ИАН инд.: $r=0,69$; $p<0,05$). У детей с ПН отмечено еще более выраженная взаимосвязь данных показателей (НСТ инд.: $r=0,85$; $p<0,01$; ИАН инд.: $r=0,79$; $p<0,01$; ФИ: $r=0,88$; $p<0,05$, ФР: $r=0,59$; $p<0,05$). Углубляющийся дефицит Zn является фактором, способствующим снижению способности нейтрофилов к внутриклеточному киллингу (ФЧ: $r=0,57$; $p<0,05$). Наши данные совпадают с экспериментальными работами о влиянии дефицита Zn на фагоцитарную активность нейтрофилов и функциональный потенциал клетки в эксперименте [8]. Дефицит Zn при ТИН и ПН, влияя на метаболическую активность и способность нейтрофилов к внутриклеточному киллингу микроорганизмов, является, видимо, одним из механизмов асептического и микробного воспаления при тубулоинтерстициальных заболеваниях почек.

Заключение

Таким образом, установлено, что при заболеваниях почек отмечается снижение содержания сывороточного Zn, сопровождающееся его повышенной экскрецией. Дефицит экскреторного типа нарастает в ряду ДМН<ТИН<ПН, отражая, видимо, тяжесть патологического процесса в тубулоинтерстициальной ткани почек. Высокий уровень Zn в сыворотке крови является фактором литогенности, присоединение ренального типа экскреции данного МЭ способствует формированию МКБ. Нами выявлено влияние повышенной экскреции Zn на функциональное состояние как проксимальных (изменение уровня аминоацидурии и процента реабсорбции фосфатов), так и дистальных канальцев (нарушение процессов ацидо- и аммониогенеза). Также обнаружено, что показатели иммунологического гомеостаза подвержены депрессивному воздействию дефицита Zn: прежде всего, это касается клеточного звена иммунитета и фагоцитарной активности нейтрофилов. Дефицит Zn при ТИН и ПН идентифицирован как сочетанный — он связан как с потреблением Zn на реализацию иммунного ответа, так и повышенной его экскрецией.

ЛИТЕРАТУРА

См. online-версию журнала http://www.pediatriajournal.ru № 4/2005, приложение № 5.

Р.А. Жетишев, А.М. Мамбетова

ЛИТЕРАТУРА

1. Наумова В.И., Мизина Н.В., Ларенышева Р.Д. // Педиатрия. — 1982. — № 6. — С. 15—18.
2. Наумова В.И., Папаян А.В. Почечная недостаточность у детей. — Л., 1991. — 282 с.
3. Игнатова М.С., Гроссман П. Хроническая почечная недостаточность у детей. — М., 1986. — 223 с.
4. Румянцев А.Г., Морщакова Е.Ф., Павлов А.Д. Эритропоэтин: биологические свойства, возрастная регуляция эритропоэза, клиническое применение. — М., 2002. — С. 400.
5. Шостка Г.Д. // Эритропоэтин в лечении ХПН. — СПб., 1995. — С. 10—37.
6. Шостка Г.Д. // Нефрология. — 1997. — № 1. — С. 12—18.
7. Лашутин С.В., Николаев А.Ю. Эпоэтин альфа в лечении анемии у больных на программном гемодиализе. — Тверь, 1997. — С 39.
8. Ермоленко В.М. Иващенко М.А. Уремия и эритропоэтин. — М, 2002. — С. 104.
9. Mc Gonigle R J.S., Boineau F.G. et al. // J. Lab. Clin. Med. — 1985. — Vol. 105. — P. 449—458.
10. Santoro A. // Rev. Clin. Exp. Hematol. — 2002. — Vol. 69. — P. 12—30.