

## ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭНЗИМУРИИ В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПОЧЕЧНЫХ СТРУКТУР ПРИ РАЗНЫХ ВИДАХ И ФОРМАХ НЕФРОЛИТИАЗА

*В.В. Клочков, А.В. Клочков*

Ульяновский государственный университет, г. Ульяновск

**Метод определения ряда энзимов мочи позволяет оценить степень травматического повреждения почечной паренхимы на клеточном уровне в зависимости от локализации и длительности нахождения конкремента. При определении солевого состава конкрементов выявлено преобладание фосфатных камней у пациентов с коралловидным нефролитиазом. Данные по ферментному составу мочи позволяют не только определить степень повреждения почечной паренхимы под влиянием конкремента, но и совершенствовать раннюю диагностику осложнений нефролитиаза.**

**Ключевые слова:** нефролитиаз, энзимурия, травматическое повреждение почечной лоханки

Мочекаменная болезнь (МКБ) является распространенным урологическим заболеванием и встречается более чем у 3% населения земного шара. Отмечается тенденция к росту больных МКБ. Данные МЗ РФ свидетельствуют, что только за 4 года этого тысячелетия заболеваемость МКБ увеличилась с 405,2 до 460,3 больных на 100000 населения [2].

МКБ занимает одно из первых мест среди урологических заболеваний, составляя в среднем по России 34,2%[1]. Несмотря на наблюдаемое активное внедрение в клиническую практику современных неинвазивных методов диагностики МКБ, таких как УЗИ, спиральная компьютерная томография, скintiграфия почек и др., пациенты поступают в клинику с запущенными клиническими формами нефролитиаза[2]. Это косвенно указывает на отсутствие должной преемственности в амбулаторной службе, на погрешность стандартов и алгоритмов диагностики и лечения больных МКБ, несвоевременность направления таких пациентов в специализированные стационары.

До настоящего времени в системе здравоохранения России отсутствует методологически обоснованная диспансеризация больных МКБ. При этом известно, что уролитиаз в 47% случаев имеет рецидивирующий характер, а в 11% наблюдений осложняется хронической почечной недостаточностью. С сожалением приходится констатировать, что ни одно поликлиническое или стационарное учреждение не ведет паспортизацию больных в зависимости от диагностированной формы МКБ [2]. Попытки систематизировать диагностику метаболических нарушений при рецидивном уролитиазе предпринимают отдельные уронефрологические центры, организуя «школы МКБ», но при всей их привлекательности носят инициативный характер[3].

С клинической точки зрения при динамическом наблюдении за лечебным эффектом важно иметь четкие представления о патоморфологических изменениях произошедших в почках в зависимости от локализации камня, его формы и солевого состава. Порой, клиническое течение нефролитиаза не соответствует тем серьезным патоморфологическим и патофизиологическим нарушениям происходящим в паренхиме почки. Скрытое клиническое течение мочекаменной болезни нередко дезориентирует врача, который переоценивает благоприятный прогноз исхода заболевания[5].

Существует необходимость внедрения новых чувствительных, высокоспецифичных, работающих на клеточном уровне методов диагностики повреждения элементов нефрона у больных нефролитиазом. С этой целью предлагаем лабораторное определение энзимов мочи.

*Цель работы* – определить диагностическое значение энзимурии в оценке состояния функциональных почечных структур в зависимости от локализации камня, его формы, количества и солевого состава.

### **Материалы и методы**

Нами обследовано 107 больных с МКБ (50 мужчин и 57 женщин, возраст от 18 до 78 лет ( $M=45\pm 0,09$  лет), продолжительность заболевания от 3 месяцев до 15 лет ( $M=4,8\pm 0,06$  лет). Все больные были разделены на 5 групп. В первую группу (КЛ) включен 31 больной с локализацией конкремента в лоханке, во вторую группу (КЧ) отнесены 23 пациента с локализацией конкремента в

чашечках, третью группу составили 20 больных с камнями обеих почек (КОП), в четвертую группу включены 17 человек с множественными многоместными камнями (ММК), пятую группу составили 16 пациентов с коралловидными камнями (КК). Критериями исключения были острый пиелонефрит, обструкция мочевых путей, хронический пиелонефрит в фазе активного воспаления.

В зависимости от солевого состава камня больные были разделены на 3 группы. Больные с оксалатными камнями составили 74 (69%) человек (группа А), уратный нефролитиаз отмечен у 26 (24,3%) (группа Б), а фосфатный у 7 (6,5%) пациентов (группа В). ( таб. 1).

Для определения вида камнеобразующих солей в комплексной диагностике нефролитиаза нами предлагается использовать метод спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) света. Данный метод позволяет определить солевой состав камня по высушенной капле мочи (фации) «in vitro» при наличии конкремента локализованного в почке у больных мочекаменной болезнью[4].

Статистическая обработка результатов исследований включала методы описательной и сравнительной статистики, количественные данные представляли в виде М (среднее значение) ± SD (стандартное отклонение), а бинарные в виде ОЧ (относительной частоты) с указанием 95% ДИ (доверительного интервала). При попарном сравнении независимых групп с учетом типа распределения количественных данных применялся непараметрический тест Манна-Уитни. Для сопоставления бинарных данных в независимых группах применяли критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса, т.к. в одной из групп число наблюдений было менее 10 [8].

### Результаты и их обсуждение

Мы исследовали распространенность и виды камней почек в зависимости от их солевого состава.

Анализ полученных данных (таб. 1) позволяет высказать предположение, что камни состоящие из оксалатных солей чаще всего локализуются в почечной лоханке и чашечках с частотой в 31% и 27 % соответственно. С меньшей частотой среди оксалатных камней встречаются множественные многоместные и камни обеих почек (16%), а коралловидные камни диагностированы всего у 9% больных. Уратные камни чаще обнаруживаются в почечных лоханках (27%). Реже в группе больных уратным нефролитиазом встречались множественные многоместные, чашечковые и коралловидные камни (группы 3,4,5), в 19%, 15%, 12% соответственно. Фосфатные камни в 71% случаев имели форму коралловидных камней с односторонней локализацией и лишь в 14% случаев имели вид одиночного камня обеих почек.

Таблица 1

**Распространенность и виды камней почек в зависимости от солевого состава конкремента (n=107).**



■ Камни лоханки	▨ Камни чашечек
▤ Камни обеих почек	▧ Камни множественные многоместные
■ Коралловидные камни	

Мы также исследовали локализацию камней в почках в зависимости от их солевого состава в группах 1;2;3;4;5, полученные данные приведены в таб. 2.

Таблица 2

*Локализация камней в почках по признаку солевого состава конкремента (n=107).*

Группа	Локализация камней	Оксалатные камни (ОК)			Уратные камни (УК)			Фосфатные камни (ФК)			$\chi^2$ с поправкой Йетса		
		n=74			n=26			n=7			P		
		ОЧ	95% ДИ		ОЧ	95% ДИ		ОЧ	95% ДИ		ОК/УК	ОК/ФК	УК/ФК
1	КЛ	0,31	0,20	0,42	0,27	0,09	0,45	0,14	0,01	0,27	0,88	0,62	0,85
2	КЧ	0,27	0,17	0,37	0,15	0,01	0,30	0			0,35	0,26	0,65
3	КММ	0,16	0,08	0,25	0,19	0,03	0,35	0			0,96	0,55	0,51
4	КК	0,09	0,03	0,16	0,12	0,00	0,25	0,71	0,26	1,17	0,94	0,00	0,01
5	КОП	0,16	0,08	0,25	0,27	0,09	0,45	0,14	0,02	0,26	0,37	0,69	0,85

ОЧ – относительная частота, ИД – 95 % доверительный интервал, p – вероятность  $\alpha$  – ошибки.

В представленной таблице 2 в группе больных коралловидным нефролитиазом (КК) - группа 4 – отмечены достоверные различия частоты встречаемости фосфатных камней в сравнении с оксалатными и уратными конкрементами. Влияние солевого состава на другие варианты локализации камней в полостях почки достоверно не прослеживается (группы 1;2;3;5).

Следующим этапом наших исследований была оценка степени повреждения паренхимы почки при различных локализациях камня в её полостной системе.

Для оценки контактного повреждения почечной паренхимы на клеточном уровне мы использовали показатели количественного определения активности ферментов мочи. Ферменты мочи определяли с помощью коммерческих тест-систем фирмы “Boehringer Mannheim” (Германия) на автоматическом анализаторе «BM/Hitachi 911E».

Распределение энзимов в разных отделах нефрона имеет свои закономерности, так в почечных клубочках найдено небольшое количество энзимов, а проксимальный отдел нефрона содержит наибольшее их количество. Для ряда энзимов выявлена определенная специфичность уровня их расположения по ходу нефрона[9, 10].

Для оценки нарушения гломерулярного фильтра мы определяли холинэстеразу (ХЭ), поскольку ХЭ в почечной ткани в норме не содержится, так как не проходит через гломерулярный фильтр из-за высокой молекулярной массы 348 КДА[11]. К ферментам тубулярного эпителия относится щелочная фосфатаза (ЩФ), цинк содержащий гликопротеин. В ткани человеческой почки в основном содержится «тканеспецифический тип», который плотно связан с люминальной мембраной проксимального отдела нефрона[12,13]. Определение ЩФ в моче нами использовалось в качестве теста на повреждение цитомембран, проксимального отдела нефрона.

К ферментам щеточной каймы также относится фермент  $\gamma$ -глутаминтрансфераза (ГГТ), он содержится почти во всех органах человека, наибольшая активность определяется в ткани почек, где фермент расположен преимущественно в клетках проксимальных извитых канальцев и в нисходящей части петли Генле[6].

К цитоплазматическим ферментам отнесена лактатдегидрогеназа (ЛДГ), которая в почечной ткани практически равномерно распределена между корковым и мозговым слоем почек, в частности прямой части проксимального канальца, восходящей части петли Генле, дистальном извитом канальце и собирательном канальце наружной зоны мозгового вещества[6, 7]. Этот энзим имеет пять изоферментов (ЛДГ1–ЛДГ5). Нами исследовался аэробный изофермент ЛДГ-1, который располагается в корковом веществе почки, а именно проксимальном извитом канальце первого порядка. К митохондриальным ферментам определяемым в моче отнесены аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспаратаминотрансфераза (АСТ) [6, 7].

Амилаза в моче определялась в наших исследованиях как тест сравнения. В связи с низкой молекулярной массой (менее 70 КДА), амилаза свободно проходит через гломерулярный фильтр. Таким образом, можно полагать, что амилаза должна присутствовать в моче как при нормально функционирующих почках, так и при их контактном повреждении в одинаковых количественных выражениях.

В сводной таб.3 представлены виды диагностированной нами энзимурии, при разных локализациях камней в почках ( в соответствии с образованными группами сравнения).

Анализ данных таб. 3 свидетельствует о достоверном повышении фермента ЛДГ при коралловидных камнях(группа КК) в сравнении со всеми другими локализациями. Так же отмечено достоверное увеличение в моче фермента ЛДГ-1 при камнях, локализованных в лоханке (КЛ) в сравнении с множественным многоместным их расположением (ММК). Концентрация этого фермента достоверно увеличивается в моче пациентов с коралловидными камнями в сравнении с пациентами, имеющими чашечковые и множественные многоместные конкременты ( $p \leq 0,05$ ). Концентрация щелочной фосфатазы достоверно увеличивалась при камнях лоханки (КЛ) в сравнении с множественными многоместными (от 48,0 до 73,5 Ед/моль/кр., при  $p \leq 0,05$ ). Достоверное повышение щелочной фосфатазы при малых камнях в лоханке объясняется повышением гидростатического давления, которое возникает в результате почечной колики. Повышенное гидростатическое давление приводит к повреждению цитомембран и выходу цитоплазматических ферментов таких как: ЛДГ и ЛДГ-1. Повышение ЛДГ и его изофермента ЛДГ-1, при коралловидных камнях может быть объяснено обструкцией самой массой коралловидного камня в зоне лоханочно-мочеточникового сегмента или самих чашечек. Длительное нахождение коралловидного камня в почке приводит так же к склеротическим изменениям в зоне лоханочно-мочеточникового сегмента и тканей вокруг него, в области всего почечного синуса, вокруг шеек чашечек и окружности верхней трети мочеточника.

Выраженность энзимурии в зависимости от локализации камня в почке(n=107).

Энзимы мочи	Камни в лоханках, M±SD, n=31	Камни в чашечках, M±SD, n=23	Множественные множественные камни, M±SD, n=17	Коралловые камни, M±SD, n=16	Камни обеих почек, M±SD, n=20	p, тест Манна-Уитни									
						КЛ/КЧ	КЛ/ММ К	КЛ/КК	КЛ/КОП	КЧ/ММ К	КЧ/КК	КЧ/КОП	ММК/К К	ММК/К ОП	КК/КОП
ХЭ (Ед/ммоль кр.)	236,4±180,30	218,3±196,17	196,2±142,51	286,3±170,37	262,5±202,65	0,55	0,53	0,30	0,72	0,94	0,24	0,59	0,21	0,42	0,62
АСТ( Ед/ммоль кр.)	13,3±11,18	9,8±10,23	7,9±6,92	12,9±9,93	9,1±9,53	0,26	0,13	0,97	0,25	0,85	0,31	0,78	0,21	0,90	0,27
АЛТ(Ед/ммоль кр.)	8,9±8,34	6,2±5,88	5,9±4,63	8,7±8,08	±10,09	0,23	0,33	0,94	0,74	0,87	0,46	0,54	0,50	0,68	0,98
ЩФ Ед/ммоль кр.)	73,5±43,56	58,0±40,99	48,0±29,10	59,8±25,99	52,8±26,51	0,07	0,049	0,30	0,06	0,39	0,14	0,93	0,12	0,60	0,31
ЛДГ Ед/ммоль кр.)	30,1±22,56	18,6±14,96	32,0±35,59	66,6±57,82	31,5±34,96	0,05	0,42	0,00	0,39	0,35	0,00	0,58	0,01	0,68	0,02
ГГТ ( Ед/ммоль кр.)	81,0±45,82	80,1±45,70	74,0±70,58	83,1±49,37	66,9±53,32	0,78	0,15	0,84	0,16	0,28	0,75	0,29	0,31	0,96	0,19
ЛДГ-1 ( Ед/ммоль кр.)	27,9±19,42	7,0±6,20	16,3±14,51	33,5±16,61	27,4±26,98	0,00	0,04	0,28	0,58	0,07	0,00	0,00	0,01	0,27	0,15
Амилаза ( Ед/ммоль кр.)	200,6±95,43	226,2±81,50	211,7±78,60	302,2±116,28	177,9±93,74	0,28	0,71	0,00	0,40	0,61	0,03	0,09	0,02	0,25	0,00

Примечание: М – среднее значение, SD – стандартное отклонение, p – вероятность α – ошибки при попарных сравнениях независимых групп



При всех изученных локализациях камней амилаза присутствовала в моче пациентов в значениях равных норме, кроме больных коралловидным нефролитиазом. Это факт еще раз подтверждает, что ферментурия является признаком повреждения почечной ткани, вызванной местным влиянием конкремента на почечную ткань. Фаза течения хронического пиелонефрита была одинакова у всех больных, что позволяет игнорировать роль фактора воспаления в почке.

Согласно общему мнению исследователей, идеальный тест оценки функции почек должен удовлетворять следующим условиям: быть неинвазивным, достаточно специфичным, высокочувствительным и простым в исполнении.

По нашему мнению определение активности энзимов мочи удовлетворяет указанным требованиям и может быть рекомендовано к более широкому использованию в клинической практике.

#### **Выводы**

1. Отмечены достоверные различия в частоте встречаемости фосфатных камней при коралловидном нефролитиазе по сравнению с коралловидными камнями оксалатными и уратными. Достоверных различий по солевому составу камней иных локализация в полостях почки не отмечено.

2. Изменение количества энзимов в моче, а значит и степень патофизиологических изменений в почке зависит не от солевого состава камня, а от его расположения в полостях почки.

3. Динамический контроль за ферментурией дает ценную информацию о тонких биохимических механизмах, происходящих в почке под воздействием ретенционных изменений в чашечно-лоханочной системе, нефросклероза, обусловленных наличием конкремента.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Мочекаменная болезнь. Актуальные вопросы диагностики и выбора метода лечения / Ю.Г. Аляев [и др.] . – М., 2006. – 236 с.
2. Дзеранов Н.К. Мочекаменная болезнь. Клинические рекомендации / Н.К. Дзеранов, Н.А. Лопаткин. – М., 2007. – 296 с.
3. Школа мочекаменной болезни: возможности метафилактики рецидивного уролитиаза в системе амбулаторной помощи населению. Часть I./ Б.Н. Жиборев [и др.] // Вестн. Рос. военно-медицинской академии. – 2009. – №1/25. – С.674-675.
4. Клочков В.В. Спектроскопия комбинационного рассеяния в диагностики камнеобразующих солей при уролитиазе / В.В. Клочков, С.Н. Миков, А.В. Клочков // Материалы Рос. науч. конф. «Фундаментальные исследования в уронефрологии». – Саратов: Изд-во СГМУ, 2009. – С.287-288.
5. Колпаков И.С. Мочекаменная болезнь / И.С. Колпаков. – М., 2006. – 224 с.
6. Намазова О.С. Исследования ферментов мочи в диагностике поражений почек / О.С. Намазова // Педиатрия. – 1996. - №3. – С. 83-86.
7. Диагностическое значение энзимуррии в оценке функции почек у больных мочекаменной болезнью / А.И. Неймарк [и др.] // Урология и нефрология. – 1997. - №1. – С. 5-7.
8. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTIKA / О.Ю. Реброва. – М.: Медиасфера, 2006. – 312 с.
9. Diffuse reflectance technique for infrared analysis of urinary calculi / M. Berthelot [et al.] // *Clin. Chem.* - 1987.- Vol. **33**.- P.780–783.
10. Anwendung des Lasers fur die Harnsteinanalyse / M. Daudon [et al.] // *Pathogenese und Klinik der Harnsteine* / eds. : W. Vahlensieck, G. Gasser, Steinkopff.- Darmstadt, 1982.- Vol.VIII.- P. 311–321.
11. Daudon M. Analytical methods of calculi and urinary crystals / M. Daudon, P. Jungers // *Rev. Prat.* - 1991.- Vol. **41**.- P.2017–2022.
12. Dubach U.C. Diagnostic significance of enzyme and proteus in urine / U.C. Dubach, U. Schidt. – Bern, 1979.
13. Change in alkaline phosphatase isoenzyme pattern in urine as possible markers for renal disease / G. Pfeleiderer [et al.] // *Kidney Int.* – 1980.-Vol.17.-P.242-249.

#### **PATHOMORPHOLOGIC CHANGES IN KIDNEYS AT DIFFERENT FORMS AND KINDS NEPHROLITHIASIS**

*V.V. Klochko., A.V. Klochkov*

**Method of identification of urine enzymes allows to estimate the extent of traumatic affect to nephritic parenchymatous tissue on cellular level depending on the seat and continuance of stand of the concrement. At definition of salt structure concrements prevalence of phosphatic stones is revealed at coral kidney stone. Knowing the enzymatic composition of urine allows not only to determine the extent of nephritic parenchima trauma, associated with presence of concrement, but to progress the early detection of complications and improve the outcome of hydronephrosis caused by nephrolithiasis.**

*Key words: nephrolithiasis, enzimuriya, traumatic injury, renal pelvis*

Клочков Владимир Валерьевич доцент кафедры госпитальной хирургии УлГУ, зав. курсом урологии.432700 г.Ульяновск, ул. Л.Толстого; E-mail: [klochkov.ul@mail.ru](mailto:klochkov.ul@mail.ru)

Клочков Артем Владимирович врач-уролог МУЗ УГКБСМП, урологическое отделение, 432700 г.Ульяновск, ул. Рылеева, 30. тел. (8422) 44-27-13; E-mail: [art.doc@mail.ru](mailto:art.doc@mail.ru)