

© Синяченко О. В., Бевзенко Т. Б., Синяченко П. О., Дядык Е. А.? 2014

УДК 616.13/.14-002:616.61-003.201:[612.014.462.9+532.135]

О. В. СИНЯЧЕНКО, Т. Б. БЕВЗЕНКО, П. О. СИНЯЧЕНКО, Е. А. ДЯДЫК

СВЯЗЬ АДсорбЦИОННО-РЕОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МОЧИ ПРИ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТЕ У БОЛЬНЫХ ГЕМОРАГИЧЕСКИМ ВАСКУЛИТОМ С МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ ПОЧЕЧНЫХ СТРУКТУР

O. SYNIACHENKO, T. BEVZENKO, P. SYNIACHENKO, O. DIADYK

ASSOCIATION OF ADSORPTION-RHEOLOGICAL PROPERTIES OF URINE IN GLOMERULONEPHRITIS WITH MORPHOLOGICAL CHANGES OF RENAL STRUCTURES IN PATIENTS WITH HEMORRHAGIC VASCULITIS

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

M. Gorky Donetsk National Medical University

Ключевые слова: васкулит геморрагический, гломерулонефрит, моча, адсорбция, реология.**Key words:** hemorrhagic vasculitis, glomerulonephritis, urine, adsorption, rheology.**Резюме.** Цель работы: оценить адсорбционно-реологическое состояние мочи у больных геморрагическим васкулитом (ГВ) с гломерулонефритом (ГН), сопоставив показатели с характером морфологических изменений клубочков, канальцев, интерстиция и сосудов почек.**Материал и методы.** У 21 больного ГВ с ГН, мочевым синдромом и сохраненной функцией почек, выполнена микроскопия нефробиоптатов. С помощью компьютерных тензиометров "MPT2-Lauda", "ADSA-Toronto" и "PAT2-Sinterface" изучали показатели поверхностной вязкости, поверхностной упругости, модуля вязкоупругости, времени релаксации (ВР), динамического поверхностного натяжения (ПН) мочи, угла наклона и фазового угла (ФУ) тензиограмм.**Результаты и обсуждение.** ГН при ГВ сопровождается достоверным повышением равновесного ПН мочи у 57% от числа больных на фоне уменьшения ФУ. Адсорбционно-реологическое состояние мочи зависит от пола больных и уровня артериального давления, относительной плотности данной биологической жидкости (ВР, ФУ), содержания в ней белков и небелковых азотистых продуктов, скорости клубочковой фильтрации и морфологического класса ГН (ПН). На интегральные физико-химические свойства мочи оказывают воздействие тяжесть поражения отдельных структур почек, уровень иммунных депозитов в мезангиуме, эндотелии гломерулярных капилляров и подоцитах, достоверно влияют степени плазматического пропитывания артериол и пролиферации эндотелия сосудов. Прогностическое значение в отношении тяжести морфологических изменений со стороны почек имеет показатель ПН.**Выводы.** Оценка адсорбционно-реологических свойств мочи является новым методом диагностики ГН при ГВ, а изменения таких физико-химических показателей определяются морфологическим классом и клиническим течением почечной патологии, взаимосвязаны с тяжестью поражения клубочков, канальцев, интерстиция и сосудов.**Summary.** The aim of the work: to assess adsorption-rheological state of urine in patients with hemorrhagic vasculitis (HV) with glomerulonephritis (GN), comparing the indicators with the nature of the morphological changes of the glomeruli, tubules, interstitium and vessels of the kidneys.**Materials and methods.** Microscopy of nephrobiopsy specimens was performed in 21 patients with HV with GN, urinary syndrome and preserved renal function. Using computer tensiometers "MPT2-Lauda", "ADSA-Toronto" and "PAT2-Sinterface" indicators of surface viscosity, surface elasticity, module of viscoelasticity, relaxation time (RT), dynamic surface tension (ST) of urine, inclination angle and phasic angle (FA) of tensionograms were studied.**Results and discussion.** GN in HV is accompanied by a significant increase in (11%) the equilibrium ST of urine in 57% of patients on the background of decrease (21%) of FA. Adsorption-rheological condition of urine depends on the sex of patients and blood pressure level, the relative density of this biological fluid (RT, FA), its content of protein and non-protein nitrogen products, glomerular filtration rate and morphological class of GN (ST). The severity of the some renal structures lesion, the level of immune deposits in the mesangium, endothelium of glomerular capillary and podocytes, the degree of plasmatic impregnation arterioles and vascular endothelial proliferation significantly affect the integrated physical and chemical properties of urine. Prognostic significance in relation to the severity of morphological changes in the kidneys has an indicator of ST.**Conclusions.** Assessment of adsorption-rheological properties of urine is a diagnostic method of GN in HV, and variations of such physico-chemical parameters are determined by morphological class and the clinical course of renal pathology, correlated with the severity of glomerular, tubular, interstitium and vessels lesion.**Синяченко Олег Владимирович**
synyachenko@ukr.net

ВВЕДЕНИЕ. Геморрагический васкулит (ГВ) или пурпура Шенлайна-Геноха является первичным васкулитом с поражением мелких сосудов преимущественно IgA-иммунными комплексами [1, 7]. У страдающих ГВ больных, изменения почек в виде гломерулонефрита (ГН) развиваются в 65-70% случаев и могут проявляться весьма разнообразно – от изолированной микрогематурии (20-25% наблюдений) до нефротического синдрома (25-35%) [8]. По данным А.А.Lardhi [6], ГН возникает у каждого четвертого больного ГВ уже в дебюте заболевания, а именно от характера патологии почек и темпов прогрессирования почечной недостаточности зависит прогноз пурпуры Шенлайна-Геноха, хотя диагностика ГН вызывает определенные трудности [3, 5].

Разработанные нами принципиально новые физико-химические исследования мочи (методы максимального давления в пузырьке, анализа формы осесимметричных капель, осциллирующей капли) позволяют быстро и точно (ошибка измерений не превышает 0,1%) оценивать вязкие, упругие, вязкоэластичные, релаксационные и поверхностно-активные свойства данной биологической жидкости при хронической болезни почек, выделять параметры, обладающие диагностической и прогностической значимостью [11]. Имеются данные, что объемная вязкость мочи, как показатель ее реологических свойств, прямо коррелирует со значениями аналогичного биофизического теста плазмы крови и увеличивается согласно повышению мочевых концентраций небелковых азотистых продуктов [10].

На адсорбционно-реологические свойства модельных растворов и сыворотки крови здоровых людей оказывают влияние уровни в данных жидкостях протеинов, липидов, пептидов, полисахаридов, ферментов и стойких продуктов метаболизма системы оксида азота [4, 9]. Многие из этих веществ могут определять адсорбционно-реологические свойства мочи (АРСМ), что, гипотетически, станет полезным в нефрологической практике при обследовании пациентов с хронической болезнью почек.

ЦЕЛЬ – оценить АРСМ у больных ГН на фоне ГВ, сопоставив показатели с характером клинического течения заболевания, с уровнями белков и небелковых азотистых продуктов в моче, а также с характером морфологических изменений клубочков, канальцев, интерстиция и сосудов почек.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. АРСМ оценивали при ГН у больных ГВ в случаях выполненной нефробиопсии. Под наблюдением находился 21 больной в возрасте от 16 до 59 лет (в среднем $29 \pm 2,6$ лет), среди которых было 57% мужчин и 43% женщин. Длительность ГВ составила $11 \pm 1,9$ лет, а возраст в дебюте болезни был от 2 до 39 лет (в среднем $18 \pm 2,2$ лет). 1-я

степень активности патологического процесса на момент обследования констатирована у 43% от числа обследованных пациентов, 2-я и 3-я – соответственно у 29%. Активность заболевания в женской группе была выше ($p < 0,001$). Хроническое течение ГВ отмечено в 6 раз чаще острого, при этом гендерные различия отсутствовали. У всех пациентов функция почек была сохранена, нефротический синдром отсутствовал. Во время оценки функционального состояния почек пользовались определением скорости клубочковой фильтрации по формуле Кокрофта-Голта, средние показатели которой были равны $117 \pm 3,6$ мл/мин. Артериальная гипертензия констатирована в 24% наблюдений, параметры среднего артериального давления составили $105 \pm 2,7$ мм рт.ст., а общего периферического сосудистого сопротивления – $2458 \pm 108,6$ дин \times сек \times см $^{-5}$. Антитела к протеиназе типа-3 обнаружены у 67% от числа обследованных больных, гипер-IgA-емия ($>M+SD$ здоровых) – у 86%.

Нефробиопсию осуществляли на фоне аталгезии под контролем ультразвукового исследования почки (использована методика «True-Cut» с применением высокоскоростного пистолета «Biopty-Bard»). Гистологические срезы окрашивали гематоксилином-эозином, альциановым синим и по Ван-Гизону, осуществлялась PAS-реакция. Выполняли иммуноферментный (с пероксидазной меткой) и иммунофлюоресцентный методы исследования тканей почек. Микроскопическое исследование проводили на микроскопах «Olympus-AX40» и «Olympus-AX70-Provis» с цифровой видеокамерой «Olympus-DP50» (Япония). Подсчитывали показатель повреждений отдельных почечных структур и степень депозитов в мезангиуме, эндотелиоцитах и подоцитах клубочков, строме и канальцах IgA, IgG, IgM, C3-компонента компонента и C1q-компонента (в баллах, от 0 до 3). 2-й класс ГН установлен в 48% наблюдений, 3-й, 4-й и 6-й – в 14%, 5-й – в 10%.

Межфазную тензиореометрию мочи проводили с использованием компьютерных аппаратов «MPT2-Lauda» (Германия), «ADSA-Toronto» (Германия-Канада) и «PAT2-Sinterface» (Германия), изучали поверхностную вязкость (ПВ), поверхностную упругость (ПУ), модуль вязкоупругости (ВУ), время релаксации (ВР), поверхностное натяжение (межфазную активность) при времени существования поверхности, равном 0,01 сек (ПН1), 1 сек (ПН2), 100 сек (ПН3), а также равновесное (статическое) при времени, стремящемся к бесконечности (ПН4). Компьютер подсчитывал угол наклона (УН) и фазовый угол (ФУ) тензиограмм. В наших исследованиях применялась быстрая стрессовая деформация расширения поверхности на 1200 сек. Контрольную группу составили 27 практически здоровых людей в возрасте 17-58 лет (в среднем

33±2,3 лет), среди которых было 56% мужчин и 44% женщин.

Статистическая обработка полученных результатов исследований проведена с помощью компьютерного вариационного, корреляционного, одно- (ANOVA) и многофакторного (ANOVA/MANOVA) дисперсионного анализа (программы “Microsoft Excel” и “Statistica-Stat-Soft”, США). Оценивали средние значения (M), их стандартные отклонения (SD) и ошибки (m), коэффициенты корреляции (r), дисперсии (D), Стьюдента (t), Уилкоксона-Рао (WR) и достоверность статистических показателей (p).

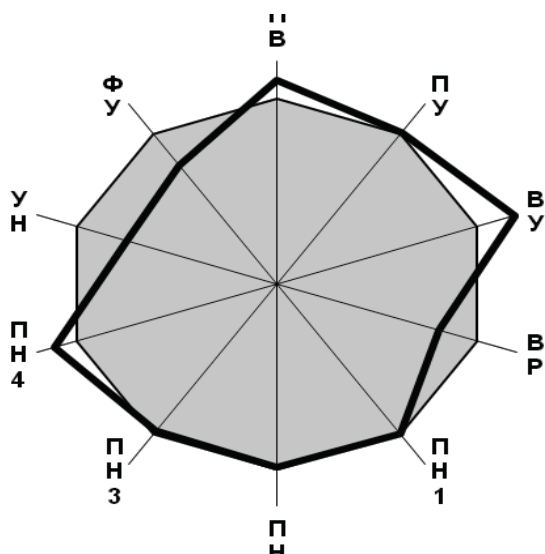


Рис. 1. Изменения показателей АРСМ у больных ГН по сравнению с параметрами у здоровых людей, которые приняты за 100%.

По нашим предыдущим данным, у здоровых лиц отмечается высокодостоверное ($p < 0,001$) влияние пола и возраста людей на интегральные показатели АРСМ [2]. Как свидетельствует многофакторный анализ Уилкоксона-Рао, на общее состояние АРСМ влияют пол больных ($p = 0,048$) и морфологический класс ГН ($p = 0,025$), но не возраст пациентов и длительность ГВ. Однофакторный дисперсионный анализ (рис. 2) демонстрирует влияние параметров среднего артериального давления на все изученные физико-химические показатели ($p < 0,001 - 0,031$). Необходимо отметить, что по результатам выполненного ANOVA, от класса ГН зависит только ПН4 мочи ($p = 0,002$).

Существуют дисперсионные зависимости показателей ПН4 от скорости клубочковой фильтрации ($p < 0,001$), а ВР и ФУ – от относительной плотности мочи (соответственно $p = 0,046$ и $p = 0,008$). С учетом результатов ANOVA/MANOVA, проведена сравнительная оценка отдельных параметров АРСМ у мужчин и женщин. Оказалось, что если в первой груп-

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. Параметры ПВ мочи у обследованных пациентов составили $8,5 \pm 0,84$ мН/м, ПУ – $37,8 \pm 2,66$ мН/м, ВУ – $24,7 \pm 2,09$ мН/м, ВР – $269,9 \pm 7,99$ сек, ПН1 – $70,8 \pm 0,36$ мН/м, ПН2 – $67,2 \pm 0,68$ мН/м, ПН3 – $59,3 \pm 0,72$ мН/м, ПН4 – $51,3 \pm 0,92$ мН/м, УН – $13,1 \pm 0,89$ мН/м $^{-1} \times \text{сек}^{1/2}$, ФУ – $82,5 \pm 5,64$ мН/м $^{-1} \times \text{сек}^{1/2}$. По сравнению с контрольной группой, констатировано повышение параметра ПН4 на 11% ($p < 0,001$), что регистрируется ($> M + SD$ здоровых) у 57% обследованных и представлено на рис. 1. Нарушения АРСМ отражает интегральный показатель – ФУ, который уменьшается на 21% ($p = 0,042$).

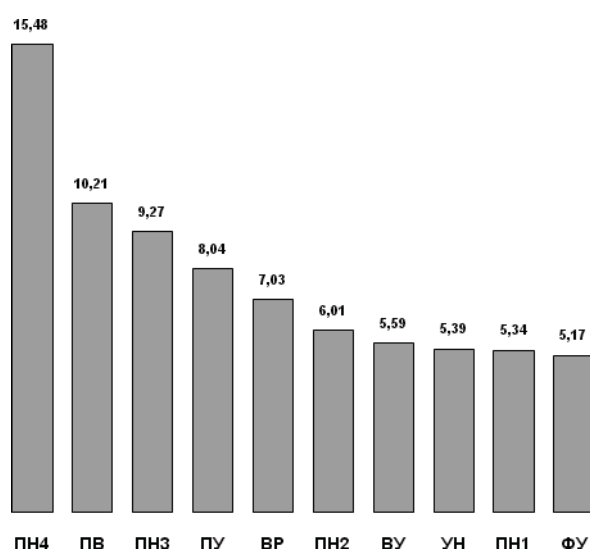


Рис. 2. Критерий дисперсионного влияния параметров артериального давления на отдельные показатели АРСМ у больных ГН.

пе значения ПН4 составляют $49,9 \pm 1,01$ мН/м, то во второй на 9% больше ($54,6 \pm 0,16$ мН/м; $p = 0,003$). Такие различия могут быть обусловлены меньшим уровнем в моче женщин, страдающих ГВ с поражением почек, белковых сурфактантов и небелковых азотистых продуктов или неорганических поверхностно-неактивных веществ.

ОБСУЖДЕНИЕ. ПН4 зависит от всех изученных в моче белков и азотистых компонентов, но лишь на этот физико-химический параметр оказывают высокодостоверное ($p < 0,001$) воздействие концентрации в моче общего белка и нитритов. Необходимо отметить, что уровни ПВ, ПУ и ПН3 тесно связаны с содержанием фибронектина (соответственно $p = 0,012$, $p = 0,025$, $p = 0,017$) и мочевой кислоты ($p = 0,006$, $p = 0,006$, $p = 0,029$). Все физико-химические адсорбционно-реологические показатели определяются уровнями в моче $\beta 2$ -микроглобулина, креатинина и мочевины.

Отсутствуют какие бы то ни было достоверные корреляционные взаимоотношения био-

химических показателей мочи с уровнями ПН1 и ФУ. Концентрации общего белка и нитритов имеют прямые корреляции только с релаксационными свойствами мочи (соответственно $p=0,044$ и $p=0,008$). Как известно, поверхностную активность в зоне коротких времен существования поверхности (ПН1) определяют низкомолекулярные сурфактанты, а ФУ тензиореограмм – интегральные взаимоотношения низко-, средне- и высокомолекулярных веществ, причем, как поверхностно-активных, так и неактивных (инсурфактантов), к которым относятся электролиты.

По результатам выполненного ANOVA/MANOVA, на интегральные APCM влияют на-

личие тубулярного ($p=0,007$) и интерстициального ($p=0,002$) компонентов поражений почек, тяжесть вовлечения в патологический процесс клубочков ($p=0,013$), канальцев ($p=0,015$), стромы ($p=0,001$) и сосудов ($p=0,045$). Кроме того, APCM зависят от степеней отложений в мезангиуме IgA ($p<0,001$), IgG ($p<0,001$) и C3-компонента комплемента ($p=0,001$, в гломерулярном эндотелии и подоцитах – IgA ($p=0,002$), IgG ($p<0,001$) и C1q-компонента ($p=0,003$), тяжести плазматического пропитывания сосудов ($p<0,001$) и пролиферации эндотелиоцитов артериол ($p=0,004$), что демонстрирует многофакторный анализ Уилкоксона-Рао.

Таблица 1

Степень дисперсионного влияния тяжести поражения отдельных структур почек на параметры APCM у больных ГВ с ГН

Показатели APCM	Структуры почек							
	клубочки		канальцы		строма		сосуды	
	D	p	D	p	D	p	D	p
ПВ	1,59	0,258	11,77	0,001	110,28	<0,001	3,03	0,077
ПУ	0,50	0,689	10,81	0,002	153,47	<0,001	1,89	0,196
ВУ	0,52	0,724	8,04	0,005	108,19	<0,001	1,52	0,277
ВР	1,11	0,442	6,96	0,011	179,32	<0,001	1,91	0,208
ПН1	0,50	0,693	3,94	0,043	8,58	0,004	0,35	0,350
ПН2	1,46	0,302	9,62	0,003	856,22	<0,001	2,57	0,114
ПН3	1,25	0,357	10,55	0,002	184,96	<0,001	2,49	0,118
ПН4	250,54	<0,001	206,58	<0,001	953,77	<0,001	113,73	<0,001
УН	0,86	0,549	7,51	0,007	108,12	<0,001	1,74	0,232
ФУ	0,82	0,607	5,11	0,032	131,74	<0,001	1,40	0,348

Как видно из табл. 1, все параметры APCM зависят от тяжести поражений канальцев почек ($p<0,001-0,043$) и интерстиция ($p<0,001-0,004$). В свою очередь, на показатели равновесного (статического) ПН мочи влияют только выраженность повреждений клубочков и сосудов (соответственно $p<0,001$).

Тяжесть поражений канальцев и стромы почек прямо коррелирует с показателями ПВ, ПУ, ВУ, поверхностной активности мочи при средних временах и УН тензиореограмм, что представлено в табл. 2.

Таблица 2

Характер корреляционных связей степени тяжести поражения отдельных структур почек с параметрами APCM у больных ГВ с ГН

Показатели APCM	Структуры почек							
	клубочки		канальцы		строма		сосуды	
	r	p	r	p	r	p	r	p
ПВ	-0,268	0,355	+0,572	0,033	+0,828	<0,001	+0,512	0,061
ПУ	-0,290	0,315	+0,617	0,019	+0,881	<0,001	+0,520	0,058
ВУ	-0,115	0,697	+0,855	<0,001	+0,993	<0,001	+0,501	0,082
ВР	+0,352	0,216	-0,388	0,170	-0,688	0,007	-0,486	0,078
ПН1	-0,274	0,344	-0,400	0,156	-0,199	0,495	-0,050	0,867
ПН2	-0,254	0,380	+0,585	0,028	+0,832	<0,001	+0,509	0,063
ПН3	-0,325	0,257	+0,271	0,349	+0,555	0,039	+0,379	0,181
ПН4	+0,760	0,002	+0,774	0,001	+0,862	<0,001	+0,587	0,027
УН	-0,001	0,998	+0,891	<0,001	+0,965	<0,001	+0,503	0,067
ФУ	-0,369	0,194	+0,057	0,847	+0,352	0,217	+0,301	0,297

Выраженность гломерулярных и сосудистых изменений при ГН позитивно связана лишь с уровнем ПН4 (соответственно $p=0,002$ и $p=0,027$). С учетом дисперсионного анализа, который обнаружил связь равновесного поверхностного натяжения мочи с величиной клубочковой фильтрации, а также выполненных сопоставлений с морфологическими признаками ГН, можно утверждать, что параметры ПН4 > 55 мН/м (>M+SD больных ГВ с поражением почек) отражают тяжелые повреждения клубочков, канальцев, стромы и сосудов, что имеет немаловажную практическую (прогностическую) значимость.

Таким образом, ГН при ГВ сопровождается повышением равновесного поверхностного натяжения мочи у каждого второго больного на фоне уменьшения ФУ, причем, АРСМ зависит от пола пациентов и уровня артериального давления, относительной плотности данной биологической жидкости, содержания в ней белков и небелковых азотистых продуктов, скорости клубочковой фильтрации и морфологического класса ГН. На интегральные физико-химические свойства мочи оказывают воздействие тяжесть поражения отдельных структур почек, уровень иммунных депозитов в мезангиуме, эндотелии гломерулярных капилляров и подоцитах, степень плазматического пропитывания артериол и пролиферации эндотелия сосудов, а прогностическое значение в отношении тяжести морфологических изменений со стороны почек имеет показатель статической межфазной активности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Дядык А. И. Системные васкулиты в современной клинической практике / А. И. Дядык, Л. С. Холопов, С. Р. Зборовский [и др.]. – Донецк: Издатель Заславский, 2013. – 248 с.
2. Синяченко О. В. Адсорбционно-реологические свойства мочи здоровых людей / О. В. Синяченко, Т. Б. Бевзенко, Е. Г. Игнатенко // Укр. журн. нефрол. діалізу. – 2012. – Т. 33, № 1. – С. 14-19.
3. Dudley J. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial to determine whether steroids reduce the incidence and severity of nephropathy in Henoch-Schonlein purpura (HSP) / J. Dudley, G. Smith, A. Llewelyn-Edwards [et al.] // Arch. Dis. Child. – 2013. – Vol. 98, N 10. – P. 756-763.
4. Katayama Y. Determinants of blood rheology in healthy adults and children using the microchannel array flow analyzer / Y. Katayama, H. Horigome, H. Takahashi, K. Tanaka // Clin. Appl. Thromb. Hemost. – 2010. – Vol. 16, N 4. – P. 414-421.
5. Kawasaki Y. Henoch-Schonlein purpura nephritis in childhood: pathogenesis, prognostic factors and treatment / Y. Kawasaki, A. Ono, S. Ohara [et al.] // Fukushima J. Med. Sci. – 2013. – Vol. 59, N 1. – P. 15-26.
6. Lardhi A. A. Henoch-Schonlein purpura in children from the eastern province of Saudi Arabia / A. A. Lardhi // Saudi Med. J. – 2012. – Vol. 33, N 9. – P. 973-978.
7. Moore S. Henoch-Schonlein purpura / S. Moore, A. Bowden, S. Afify // BMJ Case Rep. – 2011. – Vol. 23. – P. 2011-2012.
8. Naija O. Predictive factors of severe Henoch-Schonlein nephritis in children: report of 34 cases / O. Naija, J. Bouzaraa, R. Goucha-Louzir, M. R. Lakhoua // Tunis Med. – 2012. – Vol. 90, N 12. – P. 878-881.
9. Park Y. J. Inference from clinical and fluid dynamic studies about underlying cause of spontaneous isolated superior mesenteric artery dissection / Y. J. Park, C. W. Park, K. B. Park, Y. N. Roh // J. Vasc. Surg. – 2011. – Vol. 53, N 1. – P. 80-86.
10. Rowat A. A pilot study to assess if urine specific gravity and urine colour charts are useful indicators of dehydration in acute stroke patients / A. Rowat, L. Smith, C. Graham, D. Lyle // J. Adv. Nurs. – 2011. – Vol. 67, N 9. – P. 1976-1983.
11. Syniachenko O. V. Dynamic surface tension and surface rheology of biological liquids / O. V. Syniachenko, D. V. Trukhin, V. N. Kazakov, S. V. Lylyk // Coll. Surf. Biointerface. – 2010. – Vol. 21. – P. 231-238.

Надійшла до редакції 19.03.2014

Прийнята до друку 06.05.2014