

ФИБРИНОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МОЧИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТЕ И АМИЛОИДОЗЕ.

Л.В.ПОДРОЛЬСКАЯ¹, Г.В.АНДРЕЕНКО¹, Л.Р.ПОЛЯНЦЕВА², И.Д.БУМБЛИТЕ²

¹Московский государственный университет им.М.В.Ломоносова, Воробьевы горы, МГУ, Биологический ф-т, 119899, Москва. ²Московская медицинская академия им.И.М.Сеченова, ул.Россолимо, Па, 119021, Москва.

У 60 больных хроническим гломерулонефритом (ХГН) и 38 больных амилоидозом изучены корреляционные взаимоотношения между активностью активатора плазминогена (АП), определяемой функциональными методами, и уровнем антигенов урокиназы (Аг УАП) и тканевого активатора плазминогена (Аг ТАП) (определенным методом ELISA). Между активностью АП в крови и моче и Аг УАП соответственно в крови и моче, обнаружена высокая степень прямой корреляции, что характеризует УАП как основной фибринолитический фермент, модулирующий фоновые флуктуации фибринолитической активности, в крови и моче. Очень высокая степень корреляции ($r = +0,84$) обнаружена между содержанием УАП в крови и Аг ТАП в моче только при амилоидозе. Функциональная белковая нагрузочная проба показала важность АП для осуществления процесса клубочковой ультрафильтрации.

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит, амилоидоз, урокиназа, тканевой активатор плазминогена.

ВВЕДЕНИЕ. Хорошо известно, что кроме основного фермента мочи - урокиназы, вклад в фибринолитическую активность мочи могут вносить и другие ферменты и проферменты, обладающие фибринолитической и профибринолитической активностью. Они попадают в мочу из крови при ультрафильтрации в почке, либо активно синтезируются и/или освобождаются из "воспалительных клеток крови" при развитии ряда патологий (плазмин, плазминоген, тканевой активатор плазминогена, лизосомальные ферменты из полиморфноядерных лейкоцитов и др.). Поэтому фибринолитическая активность мочи является комплексным показателем, с чем отчасти и связана его большая вариабельность.

Поскольку почки являются автономным органом, регулирующимся как центрально, так и местными аутомеханизмами, то в моче (продукте деятельности почки) содержатся как факторы, привнесенные из системного кровотока при ультрафильтрации крови в клубочках, так и локальные факторы, связанные с биохимизмом самой почечной ткани.

Вопрос о взаимоотношении общих организменных и местных регионарных процессов в почке сложен. Существуют немногочисленные литературные данные о том, что в возникновении и течении гиперурикемических нефритов, сопровождающихся мочекаменной болезнью, доминирующую роль играют аномалии местных фибринолитических процессов в почке [1], в то время как при амилоидозе колебания фибринолитического пула могут быть отражением флуктуаций фибринолиза в системном кровотоке.

Высокая фибринолитическая активность (ФА) мочи, обусловленная активной фильтрацией фибринолитических агентов из крови либо регионарными почечными процессами, несомненно, является важным условием свободного

продвижения мочи по системе канальцев и трубочек нефрона, поэтому, для физиологии, например, вопрос о роли фибринолитической системы почки всегда интересен, поскольку напрямую связан с проблемами физиолого-биохимического обеспечения нормального функционирования почки.

Целью данной работы явилось изучение ФА мочи при двух различных заболеваниях почек: хроническом гломерулонефрите (ХГН) и амилоидозе. Различие их состоит, во-первых, в том, что ХГН имеет иммунную природу, а амилоидоз представляет неиммунное воспаление, и, во-вторых, в том, что свойственное амилоидозу наличие белка-амиоида в субэндотелиальном пространстве кровеносных сосудов значительно модифицирует синтез и/или освобождение факторов фибринолиза из эндотелия в кровь и мочу. Поэтому были изучены корреляционные взаимоотношения различных показателей фибринолиза в крови и моче, связь их с важнейшим параметром функционирования почки - уровнем клубочковой фильтрации, изменения фибринолиза в моче в момент максимальной мобилизации функциональных резервов почки после функциональной нагрузочной пробы - белковой нагрузки.

МЕТОДИКА. Исследовали фибринолитическую активность (ФА) мочи у 98 больных с заболеваниями почек: 60 больных с хроническим гломерулонефритом (ХГН) - латентная и нефротическая форма ХГН - и 38 больных с амилоидозом почки (протеинурическая и нефротическая стадии). В моче определяли суммарную фибринолитическую активность (СФАМ) и связанную с ней активность активатора плазминогена по зонам лизиса на фибриновых пластинках [2], содержание тканевого активатора плазминогена (ТАП) и активатора плазминогена урокиназного типа (УАП) методом ELISA [3]. В крови определяли функциональную активность активатора плазминогена (ФААП) методом фибриновых пластин [2] и содержание антигена ТАП и УАП методом ELISA [3].

Белковую нагрузку у 20 пациентов ХГН и амилоидозом с нефротическим синдромом (НС) производили по методике, описанной Bosch e. a. [4] для выяснения резервов функционального состояния почек, оцениваемых по коэффициенту уровня клубочковой фильтрации. На этой же модели определяли и резервы фибринолитической системы в крови и моче.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. В таблице 1 представлены результаты определения показателей фибринолиза в моче у нефротических пациентов и у 15 здоровых лиц. Видно, что по сравнению со здоровыми людьми, большинство показателей (а при нефротическом синдроме - все показатели) фибринолиза в группах с ХГН и амилоидозом существенно выше, кроме одного - активности урокиназы в моче, которая всегда выше у здоровых лиц.

Ранее нами было показано, что малоисследованная фракция ингибиторов фибринолиза в моче при почечных заболеваниях всегда имеет большую активность, чем в норме [5], именно это обстоятельство, вероятно, объясняет меньшую активность урокиназы при патологии.

При нефротической форме ХГН и амилоидоза усиливается фибринолиз мочи, определяемый функциональными и иммунными методами по сравнению с латентной формой ХГН и протеинурической стадией при амилоидозе, и в дальнейшем мы будем оценивать только пациентов с нефротическим синдромом.

В связи с более высоким фибринолизом в моче при нефротическом синдроме (НС) обычно выдвигаются три предположения: во-первых, в мочу попадает большое количество протеаз, в том числе фибринолитических, из крови при свойственной НС значительной протеинурии; во-вторых, иммунное и неиммунное воспаления сопровождаются притоком лейкоцитов (полиморфноядерных лимфоцитов) в почку с активным освобождением лизосомальных протеаз; в-третьих, почка активно противодействует возможному "зашлаковыванию" нефронов фибрином, отложению иммунных комплексов, денатурированных белков и усиленно синтезирует протеазы (в том числе фибринолитические).

Таблица. Показатели фибринолитической системы в моче при хроническом гломерулонефрите и амилоидозе.

Клиническая группа	n	активность активатора плазминогена в моче (мм ²)	активность урокиназы (мм ²)	уровень антигена тканевого активатора плазминогена (нг/мл)	уровень антигена урокиназы (нг/мл)
хронический гломерулонефрит	60	177±26 ⁰	52±9	0,66±0,18	34,3±9*
I 1. латентная форма	28	123±26 ⁰	43±10	0,27±0,06 ⁰	21±9*
2. нефротическая форма	32	235±44 ⁰	62±17	0,9±0,27 ⁰	40±15,1
амилоидоз	38	254±44	46±9	1,2±0,3 ^{□□}	16,0±7,5
II 1. протеинурическая стадия	14	170±49	26±15	0,6±0,2 [■]	2,9±0,4 ^{■*}
2. нефротическая стадия	24	302±62	59±12	1,8±0,4 [■]	27,2±12 ^{■*}
III здоровые люди	15	176±39	84±24	0,4±0,08 ^{□□}	7,8±1,8*

Примечание: p - показатель достоверности различий, p 1-111 (*), p 12-12 (°), p 11-111 (°), p II-III (□□), p III-112 (■), один символ - p<0,05, два - p<0,01.

Существуют косвенные способы оценки этих механизмов: 1) изучение корреляционных связей показателей в крови и моче; 2) использование функциональных нагрузок, позволяющих выявить резервы организма, оказавшегося в экстремальной ситуации в результате нагрузки.

Для изучения корреляционных взаимосвязей, кроме определения коэффициента корреляции (данные представлены на рис. 2), мы изучили соотношение параметров фибринолиза в моче у пациентов с минимальной активностью активатора плазминогена в моче (ААМ) по сравнению с параметрами пациентов, имеющих значительные величины ААМ. Данные этих определений представлены на рис.1 в виде круговых диаграмм и сопоставлены с аналогичными диаграммами для показателей фибринолиза в крови. За круг принят стопроцентный уровень изучаемых показателей при минимальной ФА в крови (рис. 1А) и в моче (рис. 1Б). Показатели для пациентов с высоким уровнем фибринолиза откладываются по радиусам круга: для крови - функциональная активность плазминогена (ФААП), уровень антигена ТАП и УАП; для мочи - это активность урокиназы (Акт. УАП) и антигенов ТАП и УАП.

Из таблицы и рис.1Б видно, что основной вклад в ФА мочи вносит урокиназа, уровень антигена которой в 20-40 раз превышает уровень ТАП; в крови же (рис. 1А) содержание обоих ферментов примерно одинаково. Содержание УАП мочи (УАП-м) хорошо коррелирует с показателем ААМ как при ХГН, так и при амилоидозе, что отражено на рис.1 и 2 (коэффициенты корреляций). Видно, что у всех пациентов с высокой ФА крови и мочи уровень урокиназы (активность и антиген) всегда выше, чем у пациентов с низкой ФА, т.е. именно урокиназа является основным фибринолитическим ферментом в крови и моче, определяющим фоновые модуляции величин ФААП в крови и ААМ в моче. В литературе имеются сведения о близких корреляционных взаимоотношениях между индивидуальными колебаниями ФААП и уровнем антигена УАП [6].

Полученные нами данные подтверждают сложившееся в литературе представление о том, что общая активность процесса фибринолиза в системном кровотоке определяется именно урокиназой, в то время как ТАП ответственен за локальный фибринолиз, связанный с растворением отложений фибрина, лизисом тромбов в системе микроциркуляции и в крупных магистральных сосудах.

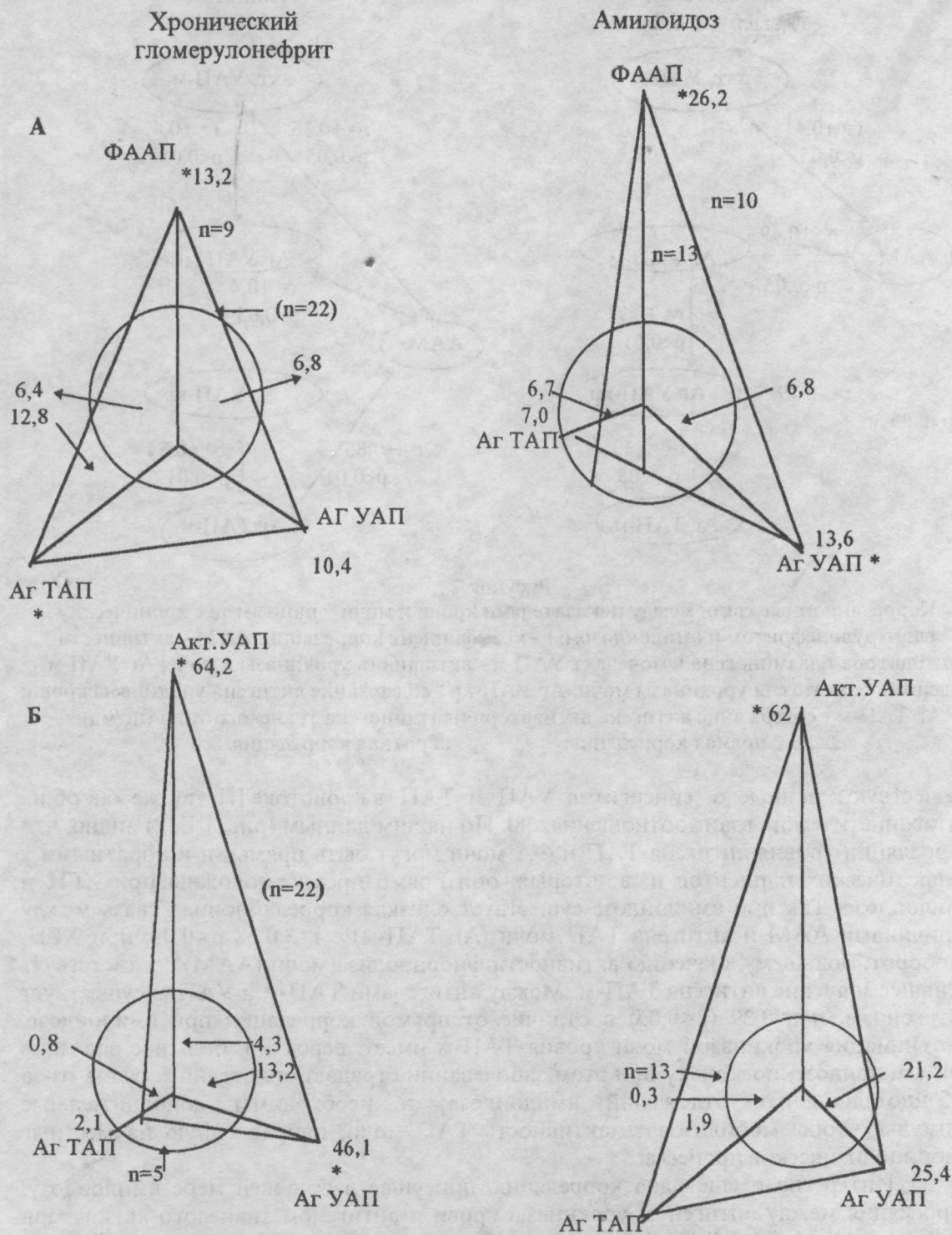


Рисунок 1.

Диаграмма показателей фибринолиза в крови и моче у нефротических больных в зависимости от активности процесса фибринолиза. А - показатели в крови; Б - показатели в моче; ФААП - функциональная активность активатора плазминогена; АГ УАП - содержание антигена урокиназы; АГ ТАП - содержание антигена тканевого активатора плазминогена; Акт. УАП - активность урокиназы в моче; круг - показатели при минимальной активности фибринолиза; треугольник - показатели при максимальной активности фибринолиза; * - статистически достоверная разница.

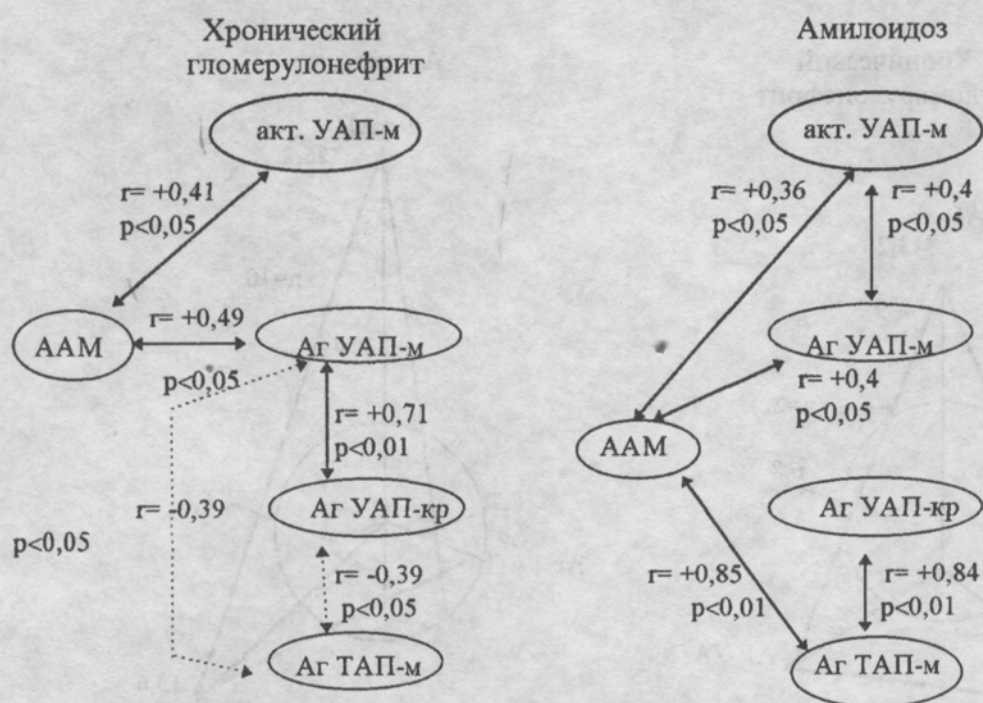


Рисунок 2.

Корреляционные связи между показателями крови и мочи у пациентов с хроническим гломерулонефритом и амилоидозом. r - коэффициент корреляции; ААМ - активность активатора плазминогена в моче; акт. УАП-м - активность урокиназы в моче; Аг УАП-м - содержание антигена урокиназы мочи; Аг УАП-кр - содержание антигена урокиназы крови; Аг ТАП-м - содержание антигена активатора плазминогена тканевого типа (нг/мл); - \longleftrightarrow прямая корреляция; $\dashleftarrow\dashrightarrow$ обратная корреляция.

Существуют данные о синергизме УАП и ТАП в кровотоке [7], так же как об их антагонистических взаимоотношениях [8]. По нашим данным (рис. 1 Б, 2) видно, что корреляции уровня антигена ТАП и ФА мочи могут быть прямыми и обратными у нефротических пациентов и, во-вторых, они прямо противоположны при ХГН и амилоидозе. Так при амилоидозе существует близкая корреляционная связь между величинами ААМ и антигена ТАП мочи (Аг ТАП-м) с $r=+0,58$ $p<0,05$; при ХГН, наоборот, большему значению активности фибринолиза мочи (ААМ) соответствует меньшее значение антигена ТАП-м. Между антигенами ТАП-м и УАП-м существует антагонизм, и $r=0,39$ ($p<0,05$) в отличие от прямой корреляции при амилоидозе. Потенциация урокиназой мочи уровня ТАП-м имеет, вероятно, большое значение при амилоидозе, поскольку при этом заболевании страдает эндотелий сосудов из-за субэндотелиальных отложений амилоидоза, и необходимы дополнительные стимулы, чтобы мобилизовать активность ТАП мочи, направленную на местные фибринолитические процессы.

Интересна и еще одна корреляция, присущая в большей мере амилоидозу: корреляция между антигеном урокиназы крови и антигеном тканевого активатора мочи с $r=+0,84$ ($p<0,001$). Вообще она обнаружена у всех 98 пациентов $r=+0,52$ ($p<0,05$), но при амилоидозе - абсолютно достоверна. Возможно, аномалии функционирования эндотелия сосудов из-за отложений амилоида в них нарушают адекватные процессы синтеза и освобождения ТАП и значительно усиливают роль системы УАП крови, которая благодаря связи Аг УАП крови Аг ТАП мочи и модулирует активность ТАП мочи. При ХГН между этими ферментами существуют антагонистические отношения.

Данные, представленные в таблице и на рис. 1 и 2 показывают, что существует мощная фибринолитическая система почки (с основным ферментом

урокиназой), модифицирующая свою активность как внутривисочными процессами (высокий уровень синтеза и освобождения урокиназы в моче), так и факторами, присутствующими в системном кровотоке (корреляция активаторов плазминогена в крови и моче). Активность другого активатора плазминогена в моче - ТАП - регулируется уровнем антигена урокиназы в крови: при амилоидозе она потенцируется, при ХГН - тормозится.

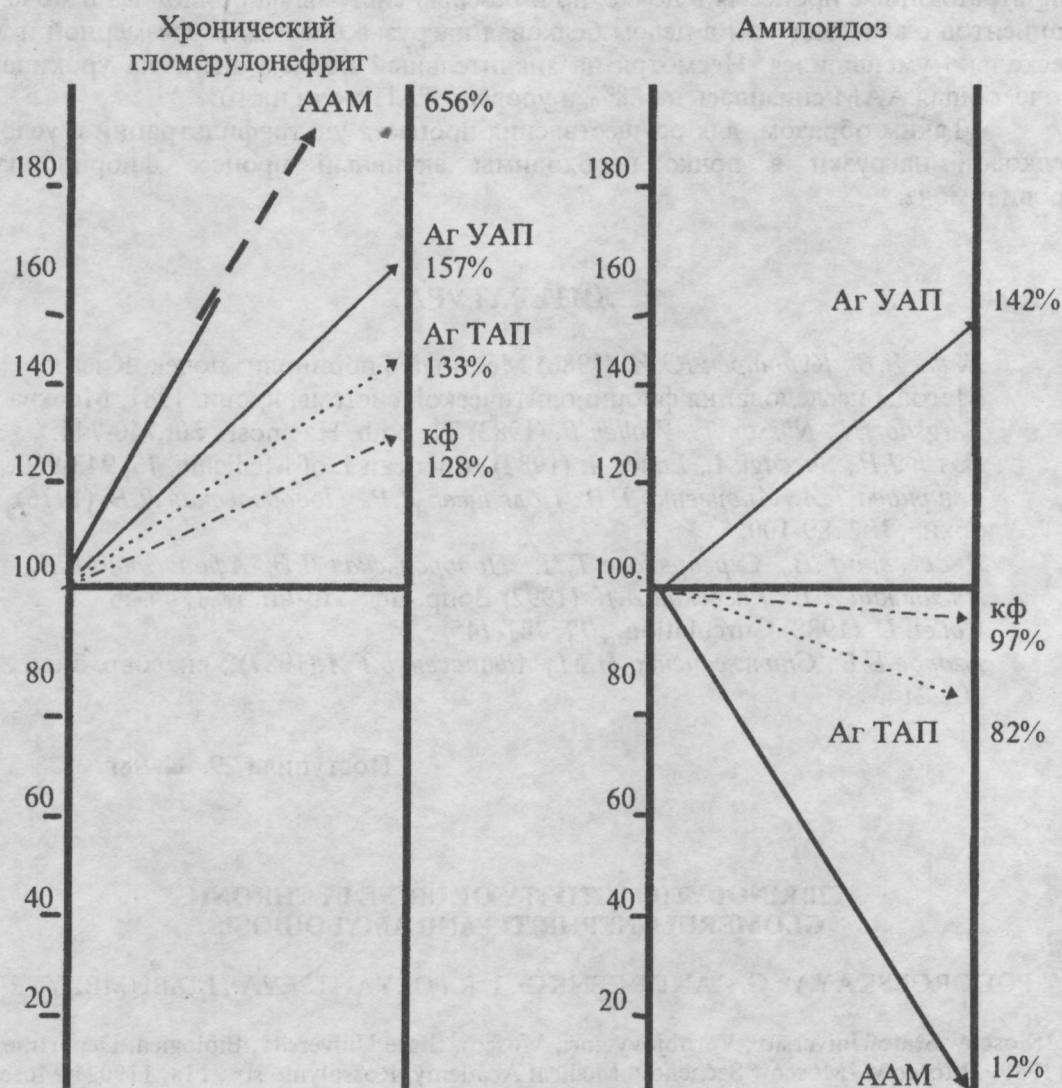


Рисунок 3

Векторная диаграмма изменений уровней клубочковой фильтрации и компонентов фибринолитической системы в моче нефротических пациентов до (100%) и после применения белковой нагрузочной пробы.

- ААМ - активность активатора плазминогена;
- Аг УАП - антиген урокиназы;
- Аг ТАП - антиген тканевого активатора плазминогена;
- кф - коэффициент клубочковой фильтрации.

Нагрузочные функциональные тесты позволяют выявить максимальные резервы функционирования той или иной физиолого-биохимической системы. Белковая нагрузочная форма используется в нефрологии для выяснения фильтрационных возможностей почки. Данные, полученные нами, представлены на рис. 3, где на левой шкале дан 100-процентный уровень фоновых значений исследуе-

мых показателей, а на правой - изменения их после нагрузки. Видно, что в результате нагрузки у 10 больных ХГН уровень клубочковой фильтрации (УКФ) возрос на 28 %, а при амилоидозе снизился на 3 %. Изменения УКФ коррелировали как с фоновой ФААП, так и с фоновой ААМ (рис. 3). Из 20 человек УКФ увеличился у 11 с исходно высокой ФААП крови, и уменьшился у 9 больных с ФААП, равной 0. Из рис.3 видно, что "белковый шок" почки (нагрузка) при ХГН стимулировал не только фильтрационные процессы в почке, но и резервы системы фибринолиза в моче. Для пациентов с амилоидозом в целом белковая нагрузка оказалась чрезмерной и УКФ несколько уменьшился. Несмотря на значительный подъем антигена урокиназы в моче, общая ААМ снизилась на 88%, а уровень ТАП мочи на 10%.

Таким образом, для осуществления процесса ультрафильтрации в условиях белковой нагрузки в почке необходимы активный процесс фибринолиза в крови и моче.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жила В.В., Кушнирек Ю.И. (1986) Местный фибринолиз почек, Киев.
2. Методы исследования фибринолитической системы крови, 1981, Москва.
3. Bergsdorf N., Nilsson T., Wallen P. (1983) Thromb. Haemost., 50, 740-744.
4. Bosch J.P., Saccagi A., Laner A. (1983) American J. of Medicine, 75, 943-950.
5. Смирнова Т.А., Андреев Г.В., Полянцева Л.Р., Подорольская Л.В. (1976) Тер. архив, №2, 89-100.
6. Андреев Г.В., Серебрякова Т.Н., Подорольская Л.В., Афанасенко Г.А., Лягинский А.В., Раевская А.К. (1992) Вопр. мед. химии, № 1, 44-46.
7. Collen D. (1988) Circulation, 77, 741-745.
8. Егоров Б.Б., Стрижаченко Н.М., Афанасенко Г.А. (1987) Усп. совр. биол., 104, 201-214.

Поступила 29. 04. 98г.

FIBRINOLYTIC ACTIVITY OF URINE IN CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS AND AMYLOIDOSIS.

L.V.PODOROLSKAYA¹, G.V.ANDREENKO¹, L.R.POLYANTSEVA², I.D.BUMBLYTE².

¹Moscow State University, Vorobjovy gori, Moscow State University, Biological Department, 119899, Moscow. ²Moscow Sechenov Medical Academy, Rossolyma str., 11a, 119021 Moscow.

Correlative interconnections between plasminogen activator (PA) activity (fibrin plate method) and level of urokinase antigen (Ag UAP) and tissue PA antigen (Ag TAP) in urine and blood (ELISA) were studied in 60 patients with chronic glomerulonephritis (CGN) and 38 patients with amyloidosis. The high degree of positive correlation between blood and urine initial PA activity and Ag UAP content was found. This suggests the possible leading role of UAP in formation of the basal fluctuations of fibrinolytic activity in blood and urine. High degree of correlation - $r=+0,84$ and $p<0,001$ - was found between blood Ag UAP and urine Ag TAP in amyloidosis only. The functional protein loading probe revealed great importance of high urine and blood AP activity in realizing of ultrafiltration renal process - in CGN and amyloidosis.

Key words: chronic glomerulonephritis, amyloidosis, urokinase, tissue plasminogen activator.