

© Курята А.В., Мирошніченко А.А., Соя Е.В., Шевцова А.И., 2011

УДК 616.12-616.61-008.331.1-036.1:612.018/-07-085

А.В. КУРЯТА<sup>1</sup>, А.А. МИРОШНИЧЕНКО<sup>2</sup>, Е.В. СОЯ<sup>1</sup>, А.И. ШЕВЦОВА<sup>1</sup>**КАРДИОРЕНАЛЬНЫЙ СИНДРОМ II ТИПА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ: ОСОБЕННОСТИ БЕЛКОВОГО СПЕКТРА МОЧИ, ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ И ПРОТЕОЛИЗА ФИБРОНЕКТИНА**А. V. KURYATA<sup>1</sup>, А. А. MIROSHNICHENKO<sup>2</sup>, E. V. SOYA<sup>1</sup>, A. I. SHEVCOVA<sup>1</sup>**CARDIORENAL SYNDROME TYPE II IN PATIENT WITH CONGESTIVE HEART FAILURE: THE FEATURES OF PROTEIN SPECTRUM OF URINE, ENDOTHELIAL FUNCTION AND PROTEOLYSIS OF FIBRONECTINE**Днепропетровская государственная медицинская академия<sup>1</sup>,  
Областная больница им. Мечникова<sup>2</sup>

**Резюме.** Учитывая литературные данные о роли нарушения функции почек в увеличении смертности больных хронической сердечной недостаточностью (ХСН), частоты госпитализаций и уменьшения эффективности терапии, необходимо усовершенствование существующих рекомендаций в условиях изменений скорости клубочковой фильтрации (СКФ). Целью исследования было оценить состояние эндотелиальной функции, белкового спектра мочи и протеолиза фибронектина у больных ХСН на фоне развития функциональной недостаточности почек, формирования кардиоренального синдрома. Обследовано 56 больных в возрасте от 45 до 69 лет с ХСН I-III функционального класса по NYHA с фракцией выброса >45%, обусловленной ишемической болезнью сердца в сочетании с артериальной гипертензией. Пациенты были разделены на две группы в зависимости от СКФ: 1-я – 21 пациент с СКФ ≥ 90 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, 2-я – 35 пациентов с СКФ < 90 ≥ 60 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>. Выбранные группы больных принципиально не различались по функциональному состоянию миокарда, морфологии сердца, функции эндотелия. Более значимые изменения со стороны почечного фильтра у пациентов с СКФ < 90 ≥ 60 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, а также более глубокая степень протеолиза фибронектина позволяют предположить самостоятельную роль почки, что требует дальнейшего изучения на более крупной популяции пациентов.

**Ключевые слова:** кардиоренальный синдром, скорость клубочковой фильтрации, сердечная недостаточность с сохраненной систолической функцией, эндотелиальная дисфункция, альбуминурия, фибронектин.

**Key words:** cardiorenal syndrome, glomerular filtration rate, heart failure with preserved systolic function, endothelial dysfunction, albuminuria, fibronectine.

**Resume.** Considering the literary data about a role of disorders of kidney function in increase in death rate patients with congestive heart failure (CHF), frequencies of hospitalization and reduction of efficiency of therapy, improvement of existing recommendations depending from glomerular filtration rate (GFR) is necessary. The aim of the study was to assess protein spectrum of urine, endothelial function, proteolysis of fibronectine in patients with CHF and renal insufficiency, development the cardiorenal syndrome. Observed 56 patients in age 45-69 years with CHF I-III NYHA functional class with ejection fraction >45%, due to coronary artery disease and arterial hypertension. The patient was divided in two groups depending from GFR: the 1st – 21 patients with GFR ≥ 90 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, the 2nd – 35 patients with GFR < 90 ≥ 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>. The chosen groups of patients essentially didn't differ on a functional condition of a myocardium, morphology of heart, endothelial function. More significant changes from the nephritic filter at patients with GFR < 90 ≥ 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup>, and also deeper degree of fibronectin proteolysis allow to assume an independent role of a kidney that demands the further studying on larger population of patients.

Вступление. На сегодняшний день существование почечного и сердечно-сосудистого континуумов не вызывает сомнения. Многие факторы, которые ассоциируются с нарушением функции почек, одновременно являются и

«традиционными» сердечно-сосудистыми факторами риска – артериальная гипертензия (АГ), сахарный диабет (СД), дислипидемия [1,3,5]. В рекомендациях ESC по лечению ХСН существует ряд проблемных вопросов, в частности, ограниченная доказательная база для лечения больных ХСН с сохраненной систолической функцией [7,9]. Кроме того, пациенты с нарушением функции почек обычно исключаются из больших клинических трайлов, в то время как в реальной клинической практике такие пациенты преобладают. Снижение СКФ является прогностически неблагоприятным фактором

**Курята Александр Викторович**

тел.: (0562) 713-53-34

e-mail: gt1@dsma.dp.ua

при ХСН, в то же время сама ХСН может привести к нарушению функции почек или усугубить уже имеющиеся нарушения. Это позволило говорить о кардиоренальном синдроме (КРС), в данном случае 2-го типа, когда возникновение ХСН приводит к ухудшению функции почек и развитию хронической болезни почек.

Например, в исследовании SOLVD (Studies of Left Ventricular Dysfunction), пациенты с уровнем СКФ менее 60 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> имели на 40% выше риск внезапной смерти [9]. Кроме того, в популяционном исследовании ADHERE (Acute Decompensated Heart Failure National Registry), риск смерти во время госпитализации был непосредственно связан с систолическим АД, азотом мочевины и уровнем креатинина крови. Таким образом, два из трех наиболее важных предикторов для выживаемости госпитализированных пациентов имели непосредственное отношение в функции почек [7].

Возможная патогенетическая модель ХСН у пациентов с сохраненной ФВ и сохраненной клубочковой фильтрацией остается до конца не изученной. Микроальбуминурия (МАУ) является одним из наиболее ранних маркеров поражения почек при АГ, ишемической болезни сердца (ИБС) и СД, а также может служить маркером эндотелиальной дисфункции. В механизме возникновения МАУ можно выделить два ведущих момента – развитие клубочковой гиперfiltrации и появление эндотелиальной дисфункции. Одним из механизмов попадания альбуминов в мочу является непосредственное поражение эндотелия сосудов, в результате чего гломерулярный барьер становится проницаемым для альбуминов.

При изучении протеинурии крайне важным является не только количественный, но и качественный состав белков в моче, в частности, наличие острофазных белков -  $\alpha$ 1-кислого гликопротеина (АГП) и фибронектина (ФН). Кроме того, в результате активации протеолиза, характерной для многих патологических процессов, происходит накопление большого количества фрагментов белков в моче при молекулярной массе близкой к альбумину за счет фильтрации через клубочек, что требует дополнительной оценки фрагментации белков [8].

В лечении ХСН на сегодняшний день приоритет принадлежит препаратам, влияющим, в первую очередь, на выживаемость больных – это и АПФ, сартаны, антагонисты альдостерона, бета-блокаторы, диуретики. Однако есть ряд проблем в реализации рекомендаций по лечению ХСН в условиях снижения функции почек – иАПФ противопоказаны при повышении креатинина; антагонисты альдостерона приводят к гиперкалиемии, риск возникновения которой многократно возрастает у пациентов с патологией почек; диуретическая терапия свя-

зана с риском усиления почечной дисфункции и снижения насосной функции сердца; относительно бета-блокаторов – на сегодняшний день отсутствуют данные об их влиянии на выживаемость у больных с хронической почечной недостаточностью.

Целью исследования было оценить состояние эндотелиальной функции, белкового спектра мочи и протеолиза фибронектина у больных ХСН на фоне развития функциональной недостаточности почек - формирования кардиоренального синдрома II типа.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 56 больных ХСН I-III функционального класса (ФК), согласно классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов (НУНА), (I-IIA ст. по В.Х. Василенко и Н. Д. Стражеско) с сохраненной систолической функцией ЛЖ (ФВ ЛЖ больше 45%, средняя ФВ – 64,64 [63,09; 66,20]%), в возрасте от 45 до 69 лет (средний возраст – 60,16 [58,57;61,76] лет). Мужчины составили 48% (27 человек), женщины – 52% (29 человек). У всех пациентов диагностирована ИБС и АГ. Диагноз ИБС и АГ устанавливали на основании стандартных критериев с учетом объективных и дополнительных методов исследования. Контрольную группу составили 21 пациент с АГ и ИБС без признаков ХСН. Пациенты были разделены на две группы в зависимости от СКФ: 1-я – 21 пациент с СКФ $\geq$ 90 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>, 2-я – 35 пациентов с СКФ $<$ 90 $\geq$ 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>.

Критериями исключения из исследования были пациенты с ХСН IV ФК с явлениями острой сердечной недостаточности; острый коронарный синдром; инфаркт миокарда и нарушение мозгового кровообращения до 6 месяцев; наличие гемодинамически значимых пороков сердца и нарушений ритма, требующих использования антиаритмических препаратов; наличие метаболических расстройств: СД, гипер- и гипотиреоз; анемия с уровнем гемоглобина менее 110 г/л и СКФ ниже 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, хроническая болезнь почек, больные хроническим obstructивным заболеванием легких.

ХСН определяли при наличии объективных и субъективных признаков, свойственных этому клиническому синдрому. Исследование функции эндотелия проводилось линейным датчиком с частотой излучения 5-12 МГц по методике Celermajer D.S. и соавт. Для расчета СКФ использовали формулу Cockcroft-Gault (1976) [10], которая рекомендована в качестве стандарта у взрослых Американской Национальной Федерацией Почек.

Определение МАУ проводилось иммунотурбодиметрическим методом с использованием реактива I.S.E. S.r.l. (LOT 097900), Италия [2, 4, 5, 6, 7, 8]. Уровень альбуминурии

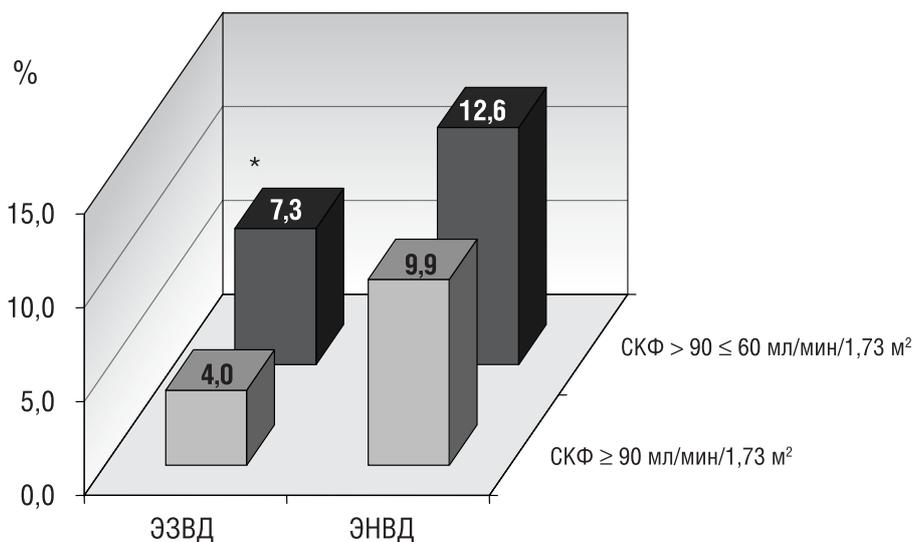
оценивался в первой порции утренней мочи. Концентрацию АГП и ФН в моче и крови измеряли методом иммунодот с использованием поликлональных специфичных антисывороток против АГП и ФН (LOT LS-C20258 «Lifespan Biosciences» и LOT 4470-2750 «AbD Serotec», Великобритания) и дальнейшей обработкой полученных данных программой Gel-Pro Analyzer 3.1. Фрагментированность ФН мочи и плазмы крови исследовалась при поступлении. Иммуноблотинг белков проводили по методике, предложенной Н. Towbin [10], с использованием кроличьих антител к ФН плазмы крови человека (DASO, Дания) и конъюгированных с пероксидазой хрена антикроличьих антител (BioRad, США). Исследование белкового спектра мочи и крови проводилось совместно с кафедрой биохимии Днепропетровской государственной медицинской академии. Статистическую обработку материалов исследования проводили с использованием методов биостатистики, реализованных в па-

кетах программ EXCEL-2003®, STATISTICA v.6.1 (Statsoft Inc., США) (лицензионный № AJAR909E415822FA).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При сравнении состояния кардиогемодинамики в двух группах в зависимости от СКФ достоверной разницы со стороны структурно-функционального состояния миокарда не выявлено. Среди пациентов с СКФ  $\geq 90$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> у 5 (8,9%) пациентов выявлена гиперфльтрация с уровнем СКФ  $>120$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>. Следует заметить, что данный феномен выявлен в условиях развития ХСН, которая априори способствует ухудшению гемодинамики в почках.

При СКФ  $\geq 90$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> нарушение эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВД) выявлено у 18 пациентов (85%), а при СКФ  $<90 \geq 60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> – у 30 (86%) пациентов, соответственно, нарушение эндотелийнезависимой вазодилатации (ЭНВД) установлено у 20 (95%) и 31 (88%) больных (рис.1).



\* – достоверность отличий ( $p=0,049$ ) по сравнению со СКФ  $\geq 90$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>.

Рис. 1. Состояние эндотелия сосудов в зависимости от функционального состояния почек у больных ХСН (ФВ  $>45\%$ )

При достоверном снижении показателя прироста эндотелиальной функции у обследованных больных выявлен более низкий уровень ЭЗВД при СКФ  $\geq 90$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, что, по нашему мнению, может объясняться более значительной ролью данного механизма на этапе прогрессирования ХСН и, вероятно, является одним из условий для формирования функциональных изменений со стороны почек.

Развитие начальных изменений функционального состояния почек (СКФ  $<90 \geq 60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) ассоциируется в увеличением выявления МАУ, но указанное отличие не достигло уровня достоверности отличий по результатам статистического анализа (рис.2).

Средний уровень альбуминурии у больных ХСН ассоциировался с увеличением показателя на фоне снижения СКФ, но без достоверной разницы (табл. 1).

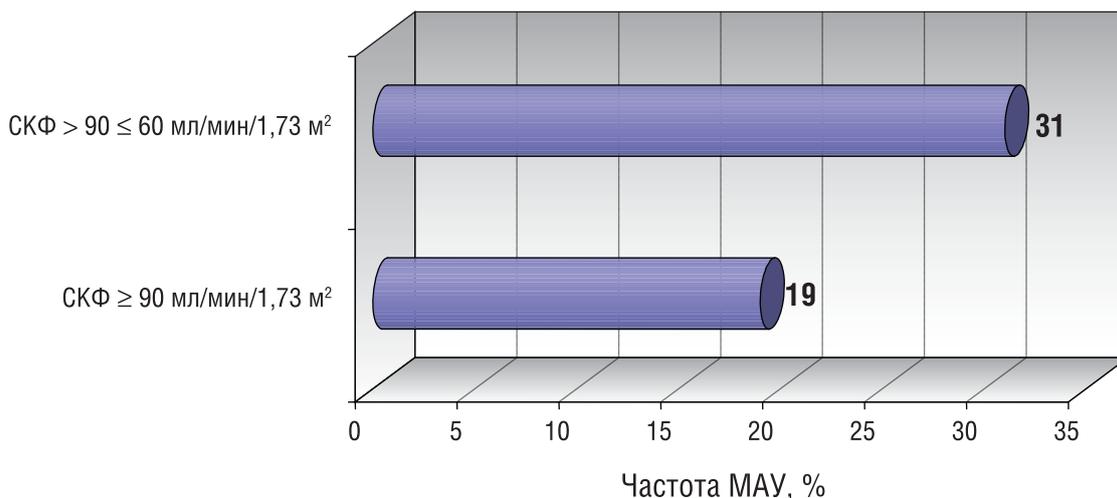


Рис. 2. Частота виявлення мікроальбумінурії в залежності від функціонального стану нирок у хворих ХСН (ФВ>45%)

Таблиця 1.

**Уровень микроальбуминурии и белковый состав мочи в зависимости от функционального состояния почек у больных ХСН**

Показатель	СКФ≥90 мл/мин/1,73м² (n-21)	СКФ<90≥60 мл/мин/1,73м² (n-35)	p
МАУ, мг/л	8,0 [0,5; 14,2]	12,0 [6,0; 33,4]	p>0,05
Общий белок, г/л	0,08 [0,05; 0,17]	0,09 [0,05; 0,31]	p=0,001
АГП, г/л	0,0009 [0,0003; 0,0015]	0,0022 [0,0010; 0,0033]	p>0,05
ФН, мкг/мл	0,0568 [0,0235; 0,1005]	0,1168 [0,0440; 0,1623]	p=0,001

Уровень корреляционной зависимости подтверждает значительную связь между креатинином и МАУ ( $r=0,39$ ;  $p=0,003$ ), а также с факторами риска поражения почек (в соответствии с рекомендациями NKF): глюкоза – МАУ ( $r=0,4$ ;  $p=0,002$ ), С-реактивный протеин – МАУ ( $r=0,27$ ;  $p=0,043$ ), мочевая кислота – МАУ ( $r=0,44$ ;  $p=0,004$ ) и МАУ с длительностью артериальной гипертензии по данным анализа амбулаторных карт ( $r=0,25$ ;  $p>0,05$ ).

$\alpha$ 1-кислый гликопротеин является острофазным протеином, синтезируемым преимущественно в печени в ответ на повреждение тканей, воспаление или инфекцию и может играть физиологическую роль иммуномодулятора. Фибронектин – многодоменный гликобелок, который является ключевым компонентом системы неспецифической защиты организма, участвует в клеточной адгезии, пролиферации, а также влияет на различные типы фагоцитарных реакций. Кроме того, ФН обладает хемо-

таксической активностью для фибробластов, что может иметь значение в процессе восстановления поврежденных тканей.

Учитывая анализ молекулярных масс белков: альбумин – 60 - 70 кДа, АГП – 37 - 44 кДа, ФН – 420 - 450 кДа, – объяснить полученный результат только механизмом гиперфльтрации или ишемии почек представляется нам несколько упрощенным, потому что при этих условиях наиболее существенную разницу мы должны были бы получить по показателю АГП, а не ФН. Таким образом, можно высказать предположение, что достоверное увеличение ФН в моче может быть независимым маркером, свидетельствующим о поражении почечной ткани, в частности, воспаление, фиброз в условиях формирования ХСН, и это заслуживает дальнейшего изучения.

Уровни показателей белкового профиля мочи – общего белка, АГП, ФН – достоверно увеличивались при развитии начальных измене-

ний со стороны функционального состояния почек (табл. 2), однако корреляционная зависимость СКФ наблюдалась только с АГП ( $r=-0,26$ ;  $p>0,05$ ).

Таблица 2.

**Уровень  $\alpha 1$ -кислого гликопротеина и фибронектина в крови в зависимости от функционального состояния почек у больных ХСН (ФВ>45%)**

Показатели	СКФ $\geq 90$ мл/мин/1,73м <sup>2</sup> (n-21)	СКФ<90 $\geq 60$ мл/мин/1,73м <sup>2</sup> (n-35)
АГП, г/л	0,81 [0,58; 1,05]	0,64 [0,54; 0,74]
ФН, мкг/мл	762 [598; 1206]	818 [646; 1120]

Учитывая молекулярную массу АГП, наличие корреляции между АГП крови и ЭЗВД ( $r=-0,45$ ;  $p=0,003$ ) может быть основанием для оценки АГП в дальнейшем как вероятного маркера раннего поражения сосудистой системы и почек.

Процесс воспаления обязательно сопровождается активацией протеолитических систем и образованием отдельных белковых фрагментов. Фиброзные изменения в ткани почек сопровождаются накоплением в клубочках и интерстиции компонентов экстрацеллюлярного матрикса в результате дисбаланса между процессами его синтеза и деградации (протеолиза) [5,8]. Нами проведено исследование степени фрагментации ФН в крови и моче. Данный подход обусловлен

тем предположением, что при ХСН в условиях гипоксии может формироваться самостоятельный механизм прогрессирования функциональных повреждений почек за счет активации воспаления. Кроме того, необходимо исключить и факт появления фрагментов в моче при молекулярной массе близкой к альбумину за счет фильтрации через клубочек.

Спектр фрагментов ФН в крови характеризовался преобладанием низкомолекулярных фракций в диапазоне 20 – 140 кДа. Объяснить появление в моче низкомолекулярных фрагментов исключительно лишь за счет фильтрации не представляется возможным, так как в крови фрагменты в диапазоне 50 – 95 кДа практически отсутствуют.

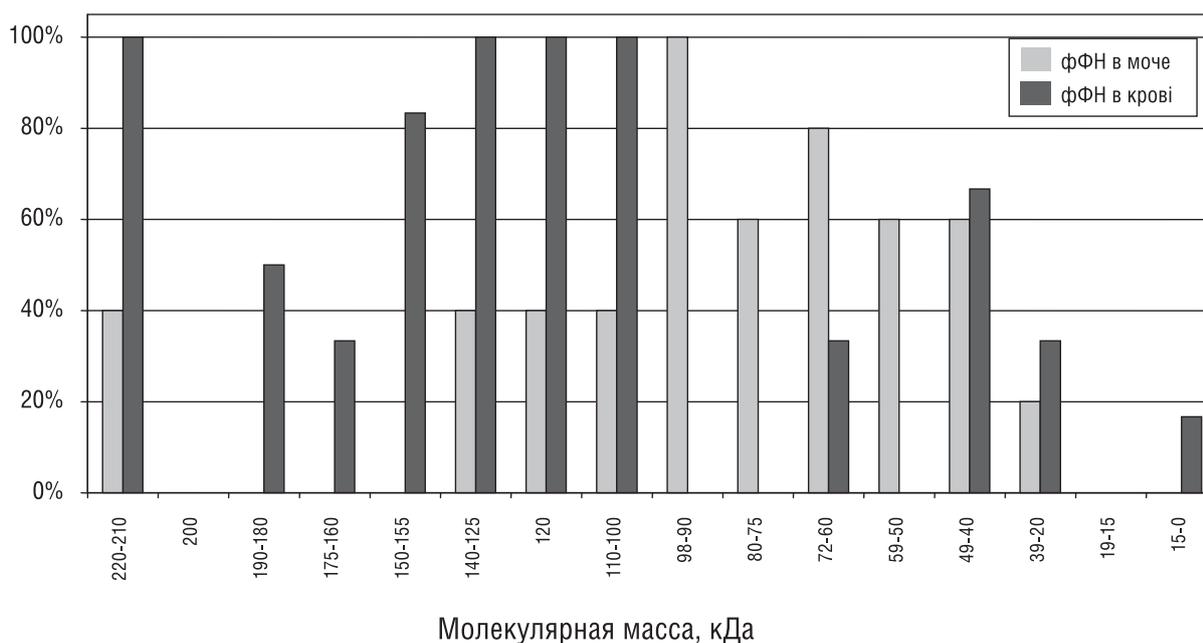


Рис. 3. Частота встречаемости фрагментов ФН в моче и крови у больных ХСН с сохраненной ФВ (СКФ $\geq 90$  мл/мин/1,73м<sup>2</sup>)

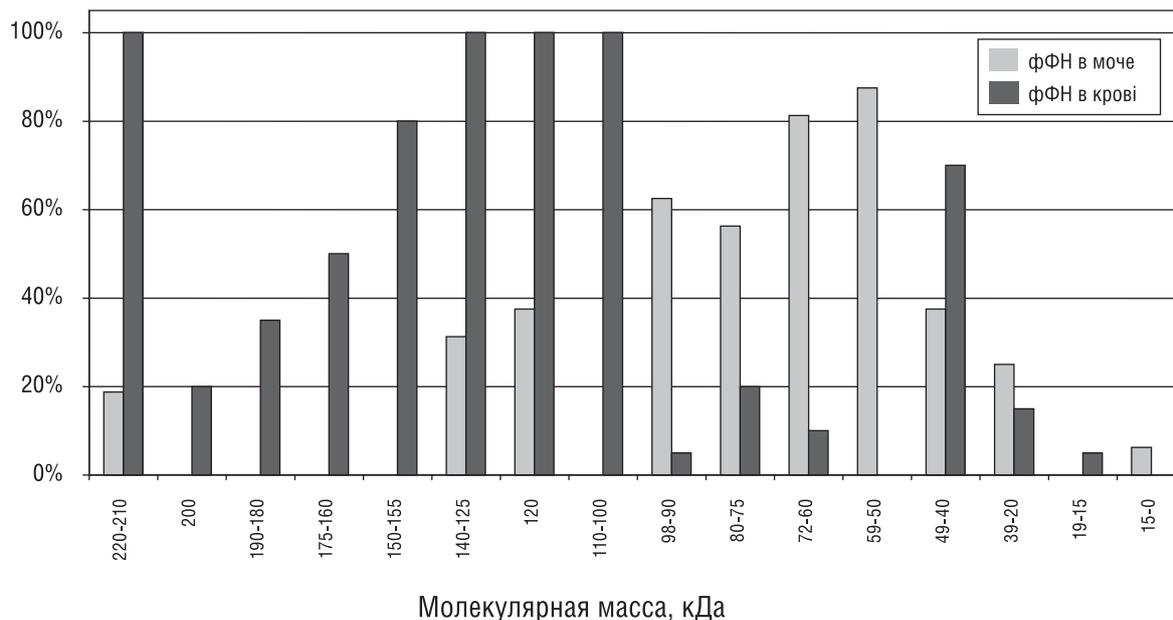


Рис. 4. Частота встречаемости фрагментов ФН в моче и крови у больных ХСН с сохраненной ФВ (СКФ < 90 ≥ 60 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>)

С другой стороны, фрагменты в диапазоне 100 – 140 кДа, особенно 20 – 40 кДа, вероятно появляются в моче путем фильтрации через почечные клубочки. С этих позиций, как пороговый маркер поражения почек при ХСН, фрагмент 140 кДа может представлять интерес в дальнейшем исследовании, потому что он превышает по молекулярной массе альбумин 60 – 70 кДа и α1-кислый гликопротеин – 37 – 44 кДа.

По литературным данным, фрагменты 20, 72, 120 кДа имеют хемотаксические свойства для моноцитов и гранулоцитов, а появление 90 – 95 кДа может свидетельствовать о вероятном прокоагулянтном потенциале, так как образуются в результате протеолиза молекулы ФН плазмином. Анализ спектра фрагментов в зависимости от СКФ (рис. 3) подтвердил, что снижение СКФ ассоциировалось лишь с возрастанием спектра низкомолекулярных фрагментов 15 – 59 кДа, что, по всей вероятности, отображает глубину протеолиза ФН.

Таким образом, характер фрагментации ФН по данным анализа спектра в крови и моче отличается, что не позволяет объяснить появление низкомолекулярных фрагментов в моче лишь за счет фильтрации. В почках наблюдается более глубокая степень протеолиза на фоне появления фрагментов 210 – 220 кДа в моче. Приведенные данные, по нашему мнению, подтверждают высокую активность протеазных систем в организме при ХСН, обусловленную локальным и системным воспалением, усилением межклеточной адгезии, возможность образования микроциркуляторных тромбов.

Проведенное исследование формирования кардиоренального синдрома II типа у больных ХСН с сохраненной систолической функцией позволяет высказаться о более сложных взаимоотношениях сердце-почка, с развитием в последних самостоятельного процесса, отражением чего является изменение белкового спектра мочи и протеолиза фибронектина. Выбранные группы больных принципиально не различались по функциональному состоянию миокарда, морфологии сердца, функции эндотелия. Более значимые изменения со стороны почечного фильтра и выявленные высокомолекулярные фрагменты фибронектина позволяют предположить самостоятельную роль почки, что, вероятно, требует дальнейшего изучения на более крупной популяции пациентов. Данная проблема представляет дополнительный интерес в условиях увеличения категории пациентов со скоростью клубочковой фильтрации в пределах 60-90 мл/мин, которая не фигурирует ни в одном крупном клиническом исследовании и не имеет единого стандартизированного подхода к выбору терапии.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Арутюнов Г.П. Проблема гиперфильтрации в клинической практике / Г.П. Арутюнов, Л.Г.Оганезова // Клин. нефрология. – 2009. – №1. – С. 29-40.
2. Иванов Д.Д. Микроальбуминурия: взгляд нефролога // Здоров'я України. – 2008. – №21. – С.18-19.

3. Недогода С. В. Возможности антигипертензивной терапии в предотвращении кардиоренального континуума // Артериальная гипертензия. – 2006. – №12. – С.26–30.
4. Celermajer D.S. Endothelial dysfunction: does it matter? It is relevant? // J. Am. Coll. Cardiology. – 1997. – Vol. 30. – P. 325 – 333.
5. Cesari M. Inflammatory markers and onset of cardiovascular events: results from the Health ABC study / M. Cesari, B.W. Penninx, A.B. Newman [et al.] // Circulation. – 2003. – Vol. 108. – P. 2317–2322.
6. Cockcroft D.W. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine / D.W. Cockcroft, M.H.Gault // Nephron. – 1976. - №16. – P.31–34.
7. Fonarow G.C. The Acute Decompensated Heart Failure National Registry (ADHERE): opportunities to improve care of patients hospitalized with acute decompensated heart failure // Rev Cardiovasc Med. – 2003. – Vol.4, Suppl. 7. – P. 21–30.
8. Gerstein H.C. Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetes and non-diabetics individuals / H.C.Gerstein, J.F. Mann, O. Yi [et al.] // JAMA. – 2001. – Vol.266. – P. 421-426.
9. Konstam M.A. Effects of the angiotensin converting enzyme inhibitor enalapril on the long-term progression of left ventricular dilatation in patients with asymptomatic systolic dysfunction. SOLVD (Studies of Left Ventricular Dysfunction) Investigators / M.A. Konstam, M.W. Kronenberg, M.F. Rousseau [et al.] // Circulation. – 1993. – №88. – P. 2277-2283.
10. Towbin H. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrilamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications / H. Towbin, T. Staehelin, J. Gordon // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1979. – Vol.76, №9. – P.4350-4354.

Надійшла до редакції 25.05.2011.

Прийнята до друку 09.06.2011.