

# Влияние иммуносупрессивной терапии на процессы канальцевого транспорта кальция

И.Э. Бородулин, О.Н. Котенко, В.П. Бузулина, И.П. Ермакова  
НИИ трансплантологии и искусственных органов МЗ РФ, Москва

## The influence of immunosuppressiv therapy upon processes of renal tubular handing of calcium

I.E. Borodulin, O.N. Kotenko, V.P. Buzulina, I.P. Yermakova

*Ключевые слова: циклоспорин, кортикостероиды, кальций, реабсорбция, аллотрансплантация почки.*

Изучено влияние циклоспорина А (ЦиА) и кортикостероидов (КС) на проксимальную и дистальную реабсорбцию кальция (Са) у реципиентов аллотрансплантированной почки с удовлетворительной функцией почечного трансплантата (56 реципиентов) и с признаками нефротоксичности ЦиА (5 реципиентов, группа 2). Ультрафильтруемый кальций (СаУФ) во всех случаях был нормальным. 49 реципиентов (группа 1) получали циклоспорин А (ЦиА), КС и азатиоприн, 7 (группа 3) – КС и азатиоприн. Обследованы также 36 больных бронхиальной астмой, длительно получавших КС (группа 4). О реабсорбции натрия (Na) и Са судили по величине их экскретируемой фракции (CNa/GFR и CCa/GFR), о проксимальной реабсорбции Са – по экскретируемой фракции лития (CLi/GFR), о дистальном транспорте Са – по его дистальной экскретируемой фракции Na (CNa/CLi). Активную канальцевую реабсорбцию Са рассчитывали по экспоненциальной кривой с доверительными интервалами ( $p = 0,95$ ) зависимости CCa/GFR от CNa/GFR. Реабсорбция Са была усилена в группах 1 и 2 и сохранна в группе 3. Проксимальный транспорт Са был усилен в группе 1 по сравнению со здоровыми и в группе 2 – по сравнению с группой 1, а в группе 3 – от здоровых не отличался. Дистальный транспорт Са в группах 1, 2 и 3 от здоровых не отличался. Дистальный градиентный транспорт Са в группах 1, 2 и 3 был в одинаковой степени снижен по сравнению со здоровыми, а активный – в одинаковой степени усилен и не отличался от группы 4. Вывод: проксимальный транспорт Са после АТП определяется, главным образом, влиянием ЦиА, а дистальный – влиянием терапии КС.

We studied the influence of cyclosporine A (CyA) and corticosteroids (CS) upon proximal and distal reabsorption of calcium (Ca) in recipients after kidney transplantation with satisfactory function of kidney allograft (56 recipients) and with signs of CyA nephrotoxicity (5 recipients, group 2). The ultrafiltrable Ca (CaUF) plasma level was normal in all recipients. 49 recipients (group 1) was administrated CyA, Cs and azathioprin, 7 (group 3) – Cs and azathioprin. We examined also 36 patients with bronchial asthma, who was administrated CS for a long time (group 4). Reabsorption of sodium (Na) and Ca was indicated by it's excretory fraction (CNa/GFr and CCa/GFR), proximal tubular reabsorption of Ca – by it's distal excretory fraction (CCa/CLi), distal gradient transport of Ca – by it's distal excretory fraction of Na. Active tubular transport of Ca – by distal excretory fraction of Na. Active tubular transport of Ca we calculated by exponential curve with confidence intervals ( $p = 0,95$ ) of dependence CCa/GFR upon CNa/GFR. Tubular reabsorption of Ca was increased in groups 1 and 2, but normal in group 3. Proximal tubular reabsorption of Ca was increased in group 1 in comparison with health, and in group 2 – in comparison with group 1, but it was normal in group 3. Distal tubular transport of Ca in groups 1, 2 and 3 did not differ from *population*. Distal gradient Ca transport was equally decreased in comparison with health, but active transport – equally increased and did not differ from group 4. In conclusion: CyA influence upon proximal, but KS – distal tubular transport of Ca.

### Введение

Нарушения гомеостаза кальция характерны для терминальной почечной недостаточности, часто персистируют после успешной аллотрансплантации почки (АТП) и в значительной степени связаны с отклонениями в состоянии канальцевой реабсорбции кальция [2, 5]. Согласно современным данным, у реципиентов аллогенной почки (АП), получающих как трехкомпонентную (циклоспорин А, преднизолон, азатиоприн), так и двухкомпонентную (преднизолон, азатиоприн) иммуносупрессивную терапию, часто встречается усиление

и редко – снижение канальцевой реабсорбции кальция [2, 4, 5]. Однако данные о характере реабсорбции кальция в различных отделах нефрона после успешной АТП при нормальном уровне кальция в плазме крови в доступной литературе нам найти не удалось. Поскольку циклоспорин А (ЦиА) может оказывать нефротоксическое действие и влиять на процессы канальцевой реабсорбции натрия [6], изучение влияния данного препарата на процессы канальцевого транспорта и гомеостаз кальция представляется особенно важным.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния ЦиА и кортикостероидов на проксимальную и

*Адрес для переписки:* 123182, г. Москва, ул. Щукинская, д. 1, НИИ трансплантологии и искусственных органов МЗ РФ  
*Телефон:* 190-77-07. Бородулин Игорь Эливерович

дистальную реабсорбцию кальция у реципиентов АП с удовлетворительной функцией трансплантата и с признаками нефротоксичности ЦиА.

### Материалы и методы

В работе представлены данные исследований, выполненных у 61 реципиента АП. Возраст реципиентов находился в диапазоне от 16 до 57 лет, срок после АТП составил от 1 до 128 месяцев. У всех обследованных гомеостаз кальция был сохранен: уровень ультрафильтруемого кальция (СаУФ) в плазме крови составлял от 1,10 до 1,48 ммоль/л. У 56 из них функция почечного трансплантата была удовлетворительной (уровень креатинина в плазме крови от 0,07 до 0,15 ммоль/л), а у 5 – сниженной (уровень креатинина в плазме крови от 0,15 до 0,22 ммоль/л).

Из 56 реципиентов с нормальной функцией почечного трансплантата 49 получали трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию, включавшую ЦиА, преднизолон и азатиоприн (группа 1). 7 реципиентов с удовлетворительной функцией почечного трансплантата, получавшие двухкомпонентную иммуносупрессию (преднизолон, азатиоприн), были объединены в группу 3. 5 реципиентов со сниженной функцией почечного трансплантата с признаками нефротоксического действия ЦиА составили группу 2. Для оценки влияния глюкокортикоидов на канальцевую реабсорбцию кальция были обследованы 36 больных с бронхиальной астмой без почечной патологии, длительное время получавшие глюкокортикоиды (группа 4).

О реабсорбции натрия и кальция судили по величине их экскретируемой фракции (соответственно, CNa/GFR и CCa/GFR).

Для оценки канальцевого транспорта натрия и кальция в проксимальном и дистальном отделах нефрона был использован клиренс эндогенного лития (CLi).

Многими авторами [6, 10, 12, 13, 15] показано, что литий реабсорбируется только в проксимальном канальце и в тех же пропорциях, что натрий и вода. Фракционная экскреция лития (CLi/GFR) с достаточной точностью отражает объем жидкости, покидающей проксимальный каналец, что позволяет использовать этот показатель в качестве индикатора проксимального канальцевого транспорта натрия. Полученные ранее доказательства того, что реабсорбция кальция в проксимальном канальце осуществляется преимущественно по межклеточным промежуткам вместе с водой по электрохимическому градиенту, создаваемому активной реабсорбцией натрия [1, 4, 7, 9, 11], дали нам возможность использовать CLi/GFR в качестве критерия проксимальной канальцевой реабсорбции кальция.

Остальную реабсорбцию натрия и кальция оценивали на основании фракционной дистальной экскреции натрия (CNa/CLi) и кальция (CCa/CLi) соответственно. Однако дистальный канальцевый транспорт кальция определяется равнодействующей градиентного транспорта, осуществляемого в толстой восходящей части петли Генле вслед за активно реабсорбируемым натрием, и активного транспорта, в дистальном канальце не зависящего от натрия [1, 7, 9, 11, 14]. О градиентном дистальном канальцевом транспорте кальция судили по CNa/CLi. Активный канальцевый транспорт

кальция рассчитывали по экспоненциальной кривой с доверительными интервалами (при уровне вероятности  $p = 0,95$ ) зависимости экскретируемой фракции кальция из 1 л клубочкового фильтрата (CCa/GFR) от экскретируемой фракции натрия из 1 л клубочкового фильтрата (CNa/GFR). Активный транспорт кальция считали повышенным или сниженным, если значения CCa/GFR были, соответственно, ниже или выше, чем у здоровых при данном значении CNa/GFR. Величины отклонений в активном транспорте кальция оценивали по T-score (количество сигм, на которое данное значение CCa/GFR отклонялось от среднего значения CCa/GFR у здоровых).

В качестве показателя, характеризующего клубочковую фильтрацию (GFR), использовали клиренс эндогенного креатинина (Ccr).

Кальций в плазме крови и моче определяли методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии на аппарате «IL-151» (США). Взятие крови осуществляли в 9.00 утра натощак, моча собиралась за 2 утренних часовых периода после водной нагрузки (500 мл бидистиллированной воды в течение 10–15 минут).

Литий в двух порциях плазмы крови, взятой в 9.00 утра и в 16.00, а также в двух утренних часовых порциях мочи на фоне водной нагрузки (500 мл бидистиллированной воды в течение 10–15 минут), после приема накануне исследования в 22.00 600 мг карбоната лития, определяли по методике, разработанной нами на атомно-абсорбционном спектрофотометре «IL-151» (США) [3, 8].

### Результаты исследований и их обсуждение

Значения CCa/GFR в группе 1 были снижены по сравнению со здоровыми на 23,4% ( $p < 0,02$ ) (табл. 1), что свидетельствовало об усилении канальцевой реабсорбции кальция. Притом значения CLi/GFR в этой группе также снижены по сравнению со здоровыми на 23,6% ( $p < 0,01$ ), а значения CCa/CLi статистически не отличались от здоровых (табл. 1). Следовательно, канальцевый транспорт кальция у реципиентов 1-й группы в проксимальном отделе нефрона был повышен, а в дистальном – нормальным. Градиентный транспорт кальция в дистальном отделе нефрона оказался сниженным, о чем свидетельствовало снижение дистальной канальцевой реабсорбции натрия, доказательством которому, в свою очередь, служило повышение значений CNa/CLi по сравнению со здоровыми на 61,5% (табл. 1). Активная реабсорбция кальция (T-score) в данной группе была усилена (табл. 1). Следовательно, нормальная величина дистального транспорта кальция достигалась сочетанием снижения градиентной и усиления активной его реабсорбции. Поскольку известно, что активная дистальная канальцевая реабсорбция кальция усиливается под влиянием паратиреоидного гормона (ПТГ) [1, 4, 9, 14], можно было предположить повышение ПТГ у реципиентов данной группы. Тем не менее, значения ПТГ в 1-й группе статистически не отличались от здоровых (табл. 1). Между величиной активного транспорта кальция и уровнем ПТГ в плазме крови не удалось выявить достоверную корреляцию ( $r = 0,13$ ;  $p > 0,05$ ). Следовательно, у реципиентов данной группы усиление активного транспорта кальция не

Таблица 1

## Показатели канальцевого транспорта натрия и кальция при двух- и трехкомпонентной иммуносупрессии, а также при нефротоксичности ЦиА

№ группы	Месяц $\pm$ S.D. (Med)						
	ССа/GFR	CNa/GFR	CLi/GFR	ССа/CLi	Cna/CLi	PTH (T-score)	ССа/GFR (T-score)
1	1,05 $\pm$ 0,65 (0,97) n = 49 *	1,33 $\pm$ 0,6 (1,26) n = 49	24,46 $\pm$ 9,81 (24,54) n = 49 *	4,62 $\pm$ 3,37 (4,0) n = 49	5,91 $\pm$ 2,7 (5,3) n = 49 *	0,79 $\pm$ 0,49 (2,06) n = 47	-1,77 $\pm$ 1,18 (-1,81) n = 49 *
2	0,64 $\pm$ 0,42 (0,57) n = 5 * #	1,34 $\pm$ 0,58 (1,44) n = 5	17,03 $\pm$ 6,52 (14,61) n = 5 * #	4,97 $\pm$ 5,52 (2,8) n = 5	7,82 $\pm$ 1,46 (7,85) n = 5 *	6,51 $\pm$ 11,52 (-0,88) n = 5	*-2,44 $\pm$ 1,59 (-2,83) n = 5 *
3	1,35 $\pm$ 0,69 (1,39) n = 7	2,06 $\pm$ 0,62 (2,19) n = 7	28,65 $\pm$ 8,54 (27,26) n = 7	5,03 $\pm$ 3,0 (5,1) n = 7	7,81 $\pm$ 3,23 (8,3) n = 7 *	-0,66 $\pm$ 0,95 (-0,22) n = 7	-2,65 $\pm$ 1,46 (-2,11) n = 7 *
4	1,09 $\pm$ 0,22 (1,11) n = 36 * &	1,57 $\pm$ 0,9 (1,38) n = 36 *				1,84 $\pm$ 2,4 (1,75) n = 35	-2,07 $\pm$ 1,4 (-1,78) n = 36 *
Здоровые	1,37 $\pm$ 0,66 n = 64	1,13 $\pm$ 0,58 n = 20	32,0 $\pm$ 7,76 (31,02) n = 11	3,4 $\pm$ 2,4 (2,8) n = 11	3,66 $\pm$ 1,64 (3,8) n = 11		0,23 $\pm$ 0,22 (0,95) n = 146

Обозначения: \* – отличие от здоровых статистически значимо; # – отличие от группы 1 статистически значимо; & – отличие от группы 2 статистически значимо.

было связано с гиперпаратиреозом.

При нефротоксичности ЦиА (группа 2) значения ССа/GFR были снижены по сравнению со здоровыми и реципиентами группы 1 на 53,3% ( $p < 0,01$ ) и 39,0% ( $p < 0,05$ ), соответственно, что свидетельствовало об усилении канальцевого транспорта кальция, притом более значительном, чем при неосложненном течении посттрансплантационного периода. Значения CLi/GFR у реципиентов данной группы также были снижены по сравнению со здоровыми реципиентами 1-й группы на 46,8% ( $p < 0,01$ ) и 30,4% ( $p < 0,05$ ), соответственно, что согласовывалось с данными о влиянии ЦиА на процессы реабсорбции ионов в проксимальном канальце [6]. Вместе с тем, значения ССа/CLi не отличались от здоровых и от реципиентов 1-й группы (табл. 1). Следовательно, во 2-й группе канальцевый транспорт кальция в проксимальном отделе нефрона был усилен, а в дистальном – нормальным. Градиентный дистальный транспорт кальция в данной группе оказался сниженным, о чем свидетельствовало повышение значений CNa/CLi по сравнению со здоровыми на 113,7% ( $p < 0,01$ ), степень которого была аналогична таковой в 1-й группе. Активный транспорт кальция (T-score) во 2-й группе был усилен, притом степень усиления была аналогичной в 1-й и 2-й группах. Усиление активной реабсорбции кальция, как и в 1-й группе, не было связано с гиперпаратиреозом, так как активный транспорт кальция был усилен как при нормальном (T-score ССа/GFR -0,05, -2,83 и -3,68), так и при значительно повышенном ПТТ (T-score ССа/GFR - 1,72 и 3,94). Таким образом, анализ состояния канальцевой реабсорбции кальция во 2-й группе подтвердил, что нефротоксическое действие ЦиА заключается, в основном, в усилении проксимального канальцевого транспорта, притом, не только натрия, но и кальция. Признаков же влияния ЦиА на процесс дистального канальцевого транспорта кальция мы не обнаружили.

В группе 3 (иммуносупрессия кортикостероидами и цитостатиками) ССа/GFR статистически не отличался от здоровых и от реципиентов 1-й группы (табл. 1). Следовательно, канальцевый транспорт кальция в данной группе был нормальным. При этом значения

CLi/GFR и ССа/CLi в группе 3 также не отличались от здоровых (табл. 1), что свидетельствовало о нормальном состоянии как проксимального, так и дистального канальцевого транспорта кальция в данной группе. Вместе с тем, дистальная градиентная реабсорбция была снижена, о чем свидетельствовало повышение CNa/CLi в группе 3 по сравнению со здоровыми на 113,4% ( $p < 0,01$ ), существенно не отличаясь от 1-й группы. Активный транспорт кальция (T-score) в данной группе был усилен, притом в той же степени, как и в группах 1 и 2. Следовательно, нормальная величина дистального транспорта кальция была вызвана сочетанием снижения градиентной и усиления активной его реабсорбции. В данной группе, как и в других группах реципиентов АП, усиление активной реабсорбции кальция не было связано с гиперпаратиреозом. Таким образом, увеличение объема проксимальной реабсорбции у реципиентов, получающих трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию, и нормальная его величина при двухкомпонентной иммуносупрессии подтверждают высказанное ранее предположение о действии ЦиА на процессы транспорта ионов в проксимальном отделе нефрона. Вместе с тем, различий в дистальном транспорте как натрия, так и кальция у реципиентов на двух- и трехкомпонентной иммуносупрессии выявить не удалось, что позволило предположить связь этих отклонений с действием не ЦиА, а глюкокортикоидов. Для выяснения правильности данного предположения нами было проанализировано состояние реабсорбции натрия и кальция в группе больных бронхиальной астмой, получавших глюкокортикоиды в течение длительного времени. При анализе данных выяснилось, что у больных бронхиальной астмой значения CNa/GFR были выше, чем в группе здоровых, на 39,4% ( $p < 0,05$ ), а значения ССа/GFR – ниже, чем у здоровых, на 20,4% ( $p < 0,01$ ) (табл. 1). В то же время, в 4-й группе значения CNa/GFR статистически не отличались от групп 1, 2 и 3, а значения ССа/GFR были на 70,3% ( $p < 0,05$ ) выше, чем в группе 2, и существенно не отличались от групп 1 и 3. Следовательно, канальцевый транспорт натрия и кальция не отличался от такового у реципиентов АП,

получающих двух- и трехкомпонентную иммуносупрессивную терапию. Активная реабсорбция кальция в группе 4 была статистически достоверно усилена по сравнению со здоровыми и не отличалась от таковой у реципиентов групп 1, 2, 3. Исходя из этого, можно предположить, что градиентный транспорт кальция у больных, получающих глюкокортикоиды, скорее всего, также не отличался от такового у реципиентов групп 1, 2 и 3.

Полученные данные позволяют предположить, что состояние транспорта кальция в проксимальном отделе нефрона после АТП определяется, главным образом, влиянием ЦиА. Об этом свидетельствует, во-первых, увеличение проксимального канальцевого транспорта натрия и кальция у реципиентов, получающих трехкомпонентную иммуносупрессию, и еще большее его увеличение у реципиентов с признаками нефротоксического действия ЦиА при нормальном уровне такового у реципиентов, получающих двухкомпонентную, не включающую ЦиА, иммуносупрессию, а во-вторых, полученные ранее доказательства влияния ЦиА на процессы проксимального канальцевого транспорта. Состояние же транспорта кальция в дистальном отделе нефрона находится, по-видимому, в основном под влиянием глюкокортикоидной терапии. Об этом свидетельствует, с одной стороны, аналогичная величина как градиентного, так и активного дистального транспорта кальция в группах реципиентов на двух- и трехкомпонентной иммуносупрессии, а с другой стороны – выявленный нами факт, что на величину активной реабсорбции кальция, кроме ПТГ, оказывают влияние глюкокортикоиды.

### Литература

1. Бабарыкин Д.А., Иванова Л.К., Наточин Ю.В., Перов Ю.Л., Штеренталь И.Ш. Физиология водно-солевого обмена и почки / Под ред. Ю.В. Наточина. – СПб.: Наука, 1993. – С. 263–313.
2. Ермакова И.П. Гомеостаз кальция при терминальной почечной недостаточности и аллотрансплантации почки: Автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. – М., 1990. – С. 29.
3. Ермакова И.П., Бузулина В.П., Пронченко И.А. Сравнительная оценка двух способов исследования клиренса экзогенного лития: утром натощак и в дневные часы у здоровых и больных после аллотрансплантации трупной почки // Клин. лаб. диагн. – 1997; 12. – С. 10–14.
4. Ермакова И.П., Пронченко И.А. Клиническая физиология обмена кальция в организме после аллотрансплантации почки // Очерки по физиологическим проблемам трансплантологии и применения искусственных органов / Под ред. академика В.И. Шумакова. – Тула: Репроникс ЛТД, 1998. – С. 61–93.
5. Ермакова И.П., Пронченко И.А., Ушакова К.Д., Давудова М.Ш. Роль почек и скелета в поддержании гомеостаза кальция после аллотрансплантации почки // Регуляция фосфорно-кальциевого обмена в норме и патологии. – Рига, 1987. – С. 161–171.
6. Котенко О.Н. Ренальная дисфункция почечного аллотрансплантата при применении циклоспорина А: Дисс. ... канд. мед. наук. – М., 1997.
7. Наточин Ю.В. Основы физиологии почки. – Л.: Медицина, 1982.
8. Пронченко И.А., Бузулина В.П., Кузьмин Б.В. Определение лития в крови и моче методом атомно-эмиссионной спектроскопии // Лаб. дело. – 1994; 6. – С. 26.
9. Agus Z.S., Goldfarb S. Renal regulation of calcium balance. In the book: The Kidney: Physiology and Pathophysiology. New-York, Raven press 1985.
10. Leyssac P.P., Holsten-Rathblou N.H., Skott P. et al. A micropuncture study of proximal tubule transport of lithium during osmotic diuresis. Am. J. Physiol. 1990; 258; F1090 – F1095.
11. Field M.J., Ryan G.B., Morgan T.O. Анатомия и физиология почки // Руководство по нефрологии / Под ред. J.A. Vitvort, J.R. Lorgens (Австралия). Перевод под ред. М.А. Адо, Ю.В. Наточина. – М.: Медицина, 2000.
12. Thomsen K., Schou M., Steintss I. et al. Lithium as indicator of proximal sodium reabsorption. Pflugers Arch., 1969; 308; 180–184.
13. Thomsen K. Lithium clearance: A new method, for determining proximal and distal tubular reabsorption of sodium and water. Nephron, 1984; 37; 217–223.
14. Seldin D.V. Renal handling of calcium. Nephron, 1999; 81 (Suppl. 1): 2–7.
15. Vincent H.H., Wenting R. Impaired fractional excretion of Li an early marker of CsA-induced changes in ren hemodynamics. 2 congress on Transplant. Proc. 1987; 10: 369–371.