

УТИЦАЈ ПРОТЕИНУРИЈЕ НА ТРАНСПОРТ ЈОНА НАТРИЈУМА, КАЛИЈУМА И ХЛОРА ТУБУЛИМА БУБРЕГА

Дејан ПЕТРОВИЋ¹, Радмила ОБРЕНОВИЋ²,
Милета ПОСКУРИЦА¹, Биљана СТОЈИМИРОВИЋ³

1. Клиника за урологију и нефрологију Клиничко-болничког центра "Крагујевац", Крагујевац;
2. Институт за медицинску биохемију Клиничког центра Србије, Београд; 3. Институт за урологију и нефрологију Клиничког центра Србије, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ: Протениурија доводи до оштећења функције и структуре тубулоинтерстицијума бубрега. У раду је испитано 50 болесника (24 мушкараца и 26 жена), просечне старости $46,50 \pm 13,08$ година, с просечним клиренсом ендогеног креатинина $87,29 \pm 31,17$ mL/min. У зависности од степена гломерулске протеинурије болесници су сврстани у три групе. Прву групу, с протеинуријом мањом од $0,3$ g/24h, чинило је 19 болесника (7 мушкараца и 12 жена), просечне старости $45,12 \pm 13,28$ година, с просечним клиренсом ендогеног креатинина $94,27 \pm 34,70$ mL/min. Другу групу, с протеинуријом $0,3-3,0$ g/24h, чинило је 18 болесника (8 мушкараца и 10 жена), просечне старости $45,39 \pm 12,64$ година, с просечним клиренсом ендогеног креатинина $90,07 \pm 31,89$ mL/min. Трећу групу, с протеинуријом већом од $3,0$ g/24h, чинило је 13 болесника (9 мушкараца и 4 жене), просечне старости $50,08 \pm 13,73$ година, с просечним клиренсом ендогеног креатинина $73,25 \pm 20,44$ mL/min. Као параметар за процену утицаја протеинурије на транспорт јона Na, K и Cl тубулима испитивана је фракциона екскреција јона Na, K и Cl. За статистичку анализу добијених података коришћени су те-тест и Ман Витнијев тест U. Протеинурија нема статистички значајног утицаја на укупни транспорт јона Na, K и Cl.

Кључне речи: протеинурија, функција тубула, фракциона екскреција електролита. (СРП АРХ ЦЕЛОК ЛЕК).

УВОД

Тубули су место реапсорпције јона натријума (Na^+), калијума (K^+) и хлора (Cl). Око 90 посто јона натријума реапсорбује се активним транспортом у проксималним тубулима, захваљујући делатности тзв. а-тепазе јона натријума-калијума (Na^+/K^+-ATP), која је смештена на базолатералној мембрани, и која омогућава одржавање електрохемијског градијента за Na^+ [1]. Главни ањони који се транспортују заједно с Na^+ су HCO_3^- и Cl [1].

У дисталним тубулима у физиолошким условима реапсорбује се 10 посто филтрованог Na^+ механизмом ко-транспорта $Na^+/K^+/2Cl$, за који енергију обезбеђује Na^+/K^+-ATP , смештена на базолатералној мембрани ћелија овог дела нефрона [1]. Секрецију јона калијума регулише хормон алдостерон [1].

Главна функција кортексног дела сабирних канала је исте секреција јона калијума. Тај процес је регулисан минералокортикостероидним хормонима, који стимулишу секрецију K^+ , односно реапсорпцију Na^+ [1].

Повећана и продужена реапсорпција протеина у ћелијама проксималних тубула мења функционе могућности тих ћелија, било због веће количине протеина који се метаболишу, било због деловања специфичних протеина [2-4].

Протеини који се, због поремећене пропустљивости гломерула, накупљају у лумену проксималних тубула, стимулишу стварање цитокина, хемотаксина, вазоактивних пептида и протеина ванћелијског матрикса у ћелијама проксималних тубула и тако изазивају запаљење и оживљавање тубулоинтерстицијума [2-6].

Пошто протеинурија доводи до промена структуре и функције тубула, интересантно је утврдити какав је њен утицај на реапсорпцију Na^+ , K^+ и Cl .

ЦИЉ РАДА

Циљ рада био је да се испита утицај различитог степена протеинурије на транспорт јона натријума, калијума и хлора у тубулима.

МЕТОД РАДА

Испитано је 50 болесника, лечених у Институту за урологију и нефрологију Клиничког центра Србије у Београду, од октобра 1998. до октобра 1999. године, уз примену Хелсиншке декларације о медицинским истраживањима и добијену сагласност болесника.

У студију су укључени испитаници с клиренсом ендогеног креатинина већим од 50 mL/min, без клиничких знакова хиповолемије и без употребе диуретских средстава током сакупљања мокраће. При сваком сакупљању мокраће искључена је мокраћна инфекција микробиолошким прегледом узорка мокраће.

У зависности од степена протеинурије болесници су сврстани у три групе: Прва група с протеинуријом мањом од $0,3$ g/24h, Друга група с протеинуријом од $0,3$ до $3,0$ g/24h и Трећа група испитаника с протеинуријом већом од $3,0$ g/24h (Табела 1).

Биохемијске анализе рађене су у Клиничко-биохемијској лабораторији Поликлинике Клиничког центра Србије у Београду. Узорци крви и мокраће узимани су ујутру.

Концентрације креатинина у серуму и у узорку 24-сатне мокраће (с десет пута већим разблажењем) мерене су помоћу колориметријског теста (уређај *Monarch plus II, Milan, Italy*). Нивои уреје добијени су потпуним ензимским методом (уреаза-глутамат-дехидрогеназа), уз коришћење уређаја као за креатинин. Протеинурија из узорка 24-сатне мокраће мерена је колориметријски (с *СВВ*). За мерење концентрација електролита (Na и K) у серуму и у узорку 24-сатне мокраће коришћена је пламена фотометрија. Осмолатност плазме и мокраће процењивана је криоскопски.

Клиренс супстанција је израчунат према обрасцу:

$Cx = ((Ux \times Vu) / (Px))$ mL/min, где Cx = клиренс испитиване супстанције (mL/min); Ux = концентрација испитиване супстанције у 24-сатној мокраћи (mmol/L); Vu = за-

премина 24-сатне мокраће (L); а Px = концентрација испитиване супстанције у плазми ($mmol/L$).

Фракциона екскреција супстанција (FEx) израчуната је према обрасцу:

$FEx = (Cx / Ccr) \times 100\%$, где је Cx = клиренс испитиване супстанције (mL/min), а Ccr = клиренс ендogenous креатинина (mL/min).

Транстубулски градијент за K^+ израчунат је према обрасцу: $TTKG = (UK^+ \times Posm) / (PK^+ \times Uosm)$, где су UK^+ = концентрација јона калијума у мокраћи ($mmol/L$), PK^+ = концентрација јона калијума у плазми ($mmol/L$), $Posm$ = осмолалност плазме ($mOsm/KgH_2O$), а $Uosm$ = осмолалност мокраће ($mOsm/KgH_2O$).

За статистичку анализу добијених података коришћени су: т-тест и Ман-Витнијев U-тест. Праг значајности била је вероватноћа од 0,05 и 0,01.

РЕЗУЛТАТИ

Да би се проценило стање функције бубрега испитаницима су измерене концентрације уреје и креатинина у серуму, као и клиренс ендogenous креатинина.

Код свих испитиваних болесника концентрације уреје и креатинина у серуму биле су у границама нормалних опсега. Код болесника с протеинуријом већом од 3,0 g/24h концентрације уреје и креатинина у серуму биле су веће него код болесника из Прве и Друге групе, али та разлика није статистички значајна ($p > 0,05$) (Табела 2). Статистички значајне разлике између испитиваних група болесника није било ни у резултатима клиренса ендogenous креатинина ($p > 0,05$) (Табела 2), мада је код болесника с протеинуријом већом од 3,0 g/24h клиренс ендogenous креатинина био лако снижен, а код болесника у друге две групе нормалан.

Концентрације електролита Na , K и Cl у серуму су биле у границама нормалних опсега, а између испитиваних група болесника није било статистички значајне разлике ($p > 0,05$) (Табела 2).

За индиректну процену активности тубула која зависи од хормона, испитивани су однос концентрације K^+ и Na^+ у мокраћи (UK^+/UNa^+), однос концентрације K^+ у мокраћи и збира концентрација K^+ и Na^+ у мокраћи [$UK^+/(UK^+ + UNa^+)$] и TTK^+G .

Између испитиваних група болесника нема статистички значајне разлике у активности тубула која зависи од хормона ($p > 0,05$) (Табела 2), па се може сматрати да између испитиваних болесника нема статистички значајног компензационог утицаја хормона на процесе транспорта у дисталном и сабирном рубулу.

Да би се проценио утицај протеинурије на транспорт Na^+ , K^+ и Cl у тубулима испитивани су: фракциона екскреција јона натријума (FE_{Na^+}), K^+ (FE_{K^+}) и Cl (FE_{Cl}).

Код болесника с протеинуријом већом од 3,0 g/24h фракционе екскреције Na^+ су ниже, односно фракционе екскреције K^+ више, али то није статистички значајно у односу на фракционе екскреције Na^+ и K^+ код болесника с протеинуријом мањом од 0,3 g/24h и болесника с протеинуријом од 0,3 до 3,0 g/24h ($p > 0,05$) (Табела 2). Статистички значајне разлике у фракционим екскрецијама Na^+ и K^+ нема ни између група болесника с протеинуријом мањом од

ТАБЕЛА 1. Општи подаци о болесницима

TABLE 1. General data on patients

Општи подаци General data	Групе Groups		
	I	II	III
	$Xsr \pm Std$	$Xsr \pm Std$	$Xsr \pm Std$
Број (N) Number	19	18	13
Пол (м/ж) Sex (m/f)	7/12	8/10	9/4
Старост (год.) Age (years)	45.12 ± 13.28	45.39 ± 112,64	50.08 ± 13,73
Ccr (mL/min)	94.27 ± 34.70	90.07 ± 31.89	73.25 ± 20.44
ZI	8	/	/
Essential renal disease Основа бубрежна болест	HN	7	1
	GN	4	12

N - број испитаника; m - мушкарци; $ж$ - жене; Xsr - аритметичка средина; Std - стандардна девијација; Ccr - клиренс ендogenous креатинина; ZI - здрави испитаници; HN - хипертензивна нефропатија, GN - гломерулонефритис.

N - number of patients; m - males; f - females; Xsr - mean value; Std - standard deviation; Ccr - clearance of endogenous creatinine; ZI - healthy subjects; HN - hypertensive nephropathy; GN - glomerulonephritis.

0,3 g/24h и протеинуријом од 0,3 до 3,0 g/24h ($p > 0,05$) (Табела 2).

Између испитиваних група није било ни статистички значајне разлике у фракционој екскрецији јона хлора ($p > 0,05$) (Табела 2).

ДИСКУСИЈА

До сада учињена испитивања су потврдила претпоставку да болести које примарно захватају гломеруле покрећу секундарни процес који захвата тубулоинтерстицијум и доводи до атрофије тубула, инфилтрације интерстицијума мононуклеарним ћелијама и ожиљавања тубулоинтерстицијума [5-8]. Оштећење ћелија тубула изазвано протеинуријом је најзначајнији патогенетски механизам који повезује оштећење гломерула с инфилтрацијом интерстицијума мононуклеарним ћелијама и ожиљавањем тубулоинтерстицијума [3, 5, 7, 8].

Због тога је у овом раду испитиван утицај различитог степена протеинурије на транспорт јона натријума, калијума и хлора у тубулима. Групе болесника сачињене су према степену гломерулске протеинурије и не разликују се међусобно по старосној доби, полу (Табела 1) и јачини гломерулске филтрације (Табела 2).

Између испитиваних група болесника нема статистички значајне разлике у фракционој екскрецији јона (Табела 2).

Јони натријума, калијума и хлора спадају у групу "супстанција потпуно регулисаних бубрегом", што значи да се смањењем јачине гломерулске филтрације укључују механизми адаптације тубула (повећана фракциона екскреција јона натријума, калијума и хлора) који обезбеђују хомеостазу ових електролита. Тек када јачина гломерулске филтрације падне испод 10 mL/min, механизми адаптације тубула за ове јоне се исцрпљују, што је праћено повећањем концентрације ових електролита у серуму. Између испитиваних

ТАБЕЛА 2. Приказ испитиваних параметара у зависности од степена протеинурије

TABLE 2. Examined parameters according to proteinuria degree

Испитивани параметри Examined parameters	Протеинурија - Proteinuria (g/24h)					
	<0.3 (I)		0.3 - 3.0 (II)		>3.0 (III)	
	Xsr ± Std	N	Xsr ± Std	N	Xsr ± Std	N
Уреа Urea (mmol/L)	6.01 ± 1.81	19	6.33 ± 3.16	18	6.69 ± 2.44	13
Креатинин Creatinine (mmol/L)	90.47 ± 23.02	19	94.56 ± 28.92	18	98.69 ± 28.14	13
Ccr (ml/min)	94.27 ± 34.70	19	90.07 ± 31.89	18	73.25 ± 20.44	13
Na ⁺ (mmol/L)	141.63 ± 2.99	19	142.44 ± 2.25	18	141.54 ± 2.18	13
K ⁺ (mmol/L)	4.46 ± 0.50	19	4.51 ± 0.48	18	4.52 ± 0.77	13
Cl ⁻ (mmol/L)	103.2 ± 2.70	14	101.67 ± 2.57	18	103.75 ± 3.74	12
UK ⁺ /UNa ⁺	0.29 ± 0.13	19	0.35 ± 0.22	18	0.35 ± 0.11	13
UK ⁺ / (UK ⁺ +UNa ⁺)	0.22 ± 0.08	19	0.24 ± 0.11	18	0.26 ± 0.06	13
ТТК+G	3.73 ± 1.40	19	3.87 ± 1.34	18	5.06 ± 2.65	13
FE _{Na} ⁺ (%)	1.06 ± 0.26	19	1.05 ± 0.43	18	1.01 ± 0.47	13
FE _K ⁺ (%)	8.44 ± 3.45	19	9.67 ± 5.20	18	9.85 ± 4.59	13
FE _{Cl} ⁻ (%)	1.37 ± 0.60	14	1.54 ± 0.54	18	1.52 ± 0.54	12

N - број болесника; Xsr - аритметичка средина; Std - стандардна девијација; Ccr - клиренс ендогенног креатинина; Na⁺ - јон натријума; K⁺ - јон калијума; Cl⁻ - јон хлора; UK⁺ - концентрација K⁺ у мокраћи; UNa⁺ - концентрација Na⁺ у мокраћи; ТТК+G - трансубулски градијент за K⁺; FE_{Na}⁺ - фракциона екскреција Na⁺; FE_K⁺ - фракциона екскреција K⁺; FE_{Cl}⁻ - фракциона екскреција јона хлора

N - number of patients; Xsr - mean value; Std - standard deviation; Ccr - clearance of endogenous creatinine; Na⁺ - sodium ion; K⁺ - potassium ion; Cl⁻ = chloride ion; UK⁺ - concentration of K⁺ ion in urine; UNa⁺ - concentration of Na⁺ ion in urine; ТТК+G - transtubular gradient of K⁺ ions; FE_{Na}⁺ - fractional excretion of Na⁺ ions; FE_K⁺ - fractional excretion of K⁺ ions; FE_{Cl}⁻ - fractional excretion of chloride ions.

група болесника нема статистички значајне разлике у јачини гломерулске филтрације, па се може сматрати да јачина гломерулске филтрације нема статистички значајног утицаја на добијене резултате.

На фракционој екскрецији јона натријума, калијума и хлора утиче и реасорпција јона натријума зависна од хормона, односно секреција јона калијума у дисталним и сабирним тубулима, под утицајем хормона алдостерона [9]. Као параметар реасорпције јона натријума зависне од хормона у дисталним тубулима у клиничким студијама се користи параметар дисталне измене Na⁺/K⁺ [UK⁺/(UK⁺+UNa⁺)] [9]. Хиповолемија је главни узрок активације реасорпције јона натријума зависне од хормона у дисталним тубулима. Код болесника с протеинуријом и клиничким знацима хиповолемије статистички су значајно већи параметри дисталне измене Na⁺/K⁺ него код болесника с протеинуријом и без клиничких знакова хиповолемије [9]. Постоји позитивна статистички значајна повезаност између хиповолемије и концентрације ренина и алдостерона у плазми [9]. Између фракционе екскреције јона натријума (FE_{Na}⁺) и концентрације ренина и алдостерона у плазми постоји негативна статистички значајна повезаност [9].

Сабирни тубул игра главну улогу у нето-екскрецији јона калијума, која зависи од реасорпције јона натријума у дисталном тубулу, канала за јоне калију-

ма на луминалној мембрани ћелија сабирног тубула и степена протока течности кроз тубуле у сегменту кортекса сабирног тубула. У кортексном сегменту сабирног тубула секреција јона калијума је под утицајем хормона алдостерона. У медуларном сегменту сабирног тубула јони калијума се нити реасорбују нити секретују у значајној степену. Као параметар за процену учешћа сабирног тубула у нето-екскрецији јона калијума користи се трансубулски градијент за јоне калијума (ТТК+G), који је најосетљивији показатељ секреције јона калијума у сабирним тубулима и најосетљивији индиректни показатељ делатности тубула зависне од хормона [10].

Имајући у виду да су у студију укључени болесници без клиничких знакова хиповолемије, као и то да између испитиваних група болесника нема статистички значајног компензационог утицаја хормона на процесе транспорта у дисталним и сабирним тубулима (Табела 2), добијени резултати се могу приписати утицају протеинурије на процесе транспорта Na⁺, K⁺ и Cl⁻ у тубулима.

Утврђено је да ET-1 доводи до блокирања Na⁺/K⁺-ATP у епителним ћелијама проксималних тубула [11]. Имајући у виду да протеинурија преко 2,0 g/24h (албумин, трансферин, IgG, HDL) стимулише транскрипцију mRNA за pre-pro-ET-1 у ћелијама проксималних тубула, што за последицу има појачано стварање и лучење ET-1 [11], као и то да ET-1 блокира Na⁺/K⁺-ATP у ћелијама проксималних тубула [12], очекивано је да протеинурија доводи до повећања фракционе екскреције јона натријума. У култури ћелија проксималних тубула човека такође је доказано да ET-1 директно стимулише механизам ко-транспорта Na⁺/PO₄³⁻ и контра-транспорта Na⁺/H⁺ на луминалној мембрани, као и механизам ко-транспорта Na⁺/HCO₃⁻ на базолатералној мембрани и на тај начин повећава реасорпцију Na⁺ [13, 14].

На тај начин се ова два различита утицаја ET-1 на процесе транспорта Na⁺ поништавају, из чега се може закључити да протеинурија нема статистички значајног утицаја на укупни транспорт Na⁺, K⁺ и Cl⁻.

ЗАКЉУЧАК

Протеинурија нема статистички значајног утицаја на укупни транспорт јона натријума, калијума и хлора код болесника с клиренсом ендогенног креатинина већим од 50 mL/min.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tisher CC, Madsen M.K. Anatomy of the Kidney. In: Brenner BM (Ed). The Kidney. Saunders, Philadelphia 1996;3-62.
2. Abbate M, Benigni A, Bertani T et al. Nephrotoxicity of increased glomerular protein traffic. Nephrol Dial Transplant 1999;14(2):304-12.
3. Burton JC, Harris KP. The role of proteinuria in the progression of chronic renal failure. Am J Kidney Dis 1996;27(6):765-75.
4. Burton JC, Walls J. Interstitial inflammation and scarring: messages from the proximal tubular cell. Nephrol Dial Transplant 1996;11(8):1505-7.
5. Nath KA. The tubulointerstitium in progressive renal disease. Kidney Int 1998;54(3):992-1.
6. Remuzzi G. Abnormal protein traffic through the glomerular barrier induces proximal tubular cell dysfunction and causes renal injury. Curr Opin Nephrol Hypertens 1995;4(4):339-12.
7. D Amico G. The clinical role of proteinuria. Am J Kidney Dis 1991;17(5):48-52.

THE INFLUENCE OF PROTEINURIA ON TUBULAR TRANSPORT OF Na⁺, K⁺, Cl⁻D. PETROVITSH¹, R. OBRENOVITSH², M. POSKURICA¹, B. STOJIMIROVITSH³

1. Department of Urology and Nephrology, Kragujevac Clinical Centre, Kragujevac; 2. Clinical-Biochemical Laboratory, Clinical Centre of Serbia, Belgrade; 3. Institute of Urology and Nephrology, Clinical Centre of Serbia, Belgrade

Functional and structural damages of tubulointerstitium are caused by proteinuria. The aim of this study was to assess the influence of different proteinuria levels on Na⁺, K⁺, Cl⁻ tubular transport. We examined 50 patients (24 males, 26 females), mean age 46.50 ± 13.08 years, with mean creatinine clearance of 87.29 ± 31.17 mL/min. They were separated in three groups, depending on proteinuria value. The first group with proteinuria less than 0.3 g/24h included 19 persons (7 males, 12 females), mean age 45.12 ± 13.28 years, with mean creatinine clearance of 94.27 ± 34.70 mL/min. The second group of 18 patients (8 males, 10 females), mean age 45.39 ± 12.64 years, had proteinuria of 0.3-3.0 g/24h and mean creatinine clearance of 90.07 ± 31.89 mL/min. The third group had proteinuria level higher than 3.0g/24h and mean creatinine clearance of 73.25 ± 20.44 mL/min. It included 13 patients (9 males, 4 females), mean age 50.08 ± 13.73 years. As a parameter of proteinuria influence on tubular transport of Na⁺, K⁺ and Cl⁻, fractional

excretion of these electrolytes, was studied. Student's T test, Mann Whitney U test and χ^2 test were used for statistical analysis. No statistically significant influence of proteinuria was found on Na⁺, K⁺ and Cl⁻ tubular transport.

Key words: Proteinuria, tubular function, fractional excretion of electrolyte. (SRP ARH CELOK LEK).

DEJAN PETROVIĆ
KBC "Kragujevac"
Klinika za urologiju i nefrologiju
Nefrologija
34 000 Kragujevac, Zmaj Jovina 30
Tel.: (034) 370-302
e-mail: aca96@EUnet.yu

8. D' Amico G, Ferrario F, Rastaldi MP. Tubulointerstitial damage in glomerular diseases: Its role in the Pprogression of renal damage. *Am J Kidney Dis* 1995;26(1):124-32.
9. Vande Walle JG, Donckerwolcke RAMG, Wimersma Greidanus TB et al. Renal sodium handling in children with nephrotic relapse: relation to hypovolemic symptoms. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11(11):2202-8.
10. Chacko M, Fordtran SJ, Emmett M. Effect of mineralokorticoid activity on transtubular potassium gradient, urinary [K]/[Na] ratio, and fractional excretion of potassium. *Am J Kidney Dis* 1998;32(1):47-51.
11. Benigni A, Perico N, Remuzzi G. Research on renal endothelin in pro-

- teinuric nephropathies dictates novel strategies to prevent progression. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001;10(1):1-6.
12. Zeidel ML, Brady HR, Kone BC et al. Endothelin, a peptide inhibitor of Na⁺/K⁺-ATPase in intact renal tubular epithelial cells. *Am J Physiol* 1989;257:1101-7.
13. Benigni A. Defining the role of endothelins in renal pathophysiology on the basis of selective and nonselective endothelin receptor antagonist studies. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1995;4(4):349-52.
14. Kohan DE. Endothelins in the normal and diseased kidney. *Am J Kidney Dis* 1997;29(1):2-26.

Рукoпис је достављен уредништву 6. III 2001. године