

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.61-008.64-036.12-078.33

©Азизова, Эфендиев

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ПРОЦЕССАМИ ПОЛ, СОСТОЯНИЕМ АОЗ И ОСНОВНЫМИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Г.И. Азизова, А.М. Эфендиев*

Азербайджанский Медицинский Университет, кафедра биохимии, Баку,
ул. Марданов гардашлары 98, AZ1078; тел.: (+99412) 4953953;
эл. почта: gulib18@mail.ru

Исследовали динамику изменений показателей ПОЛ и антиоксидантной защиты – церулоплазмينا - в крови больных ХПН на начальной и терминальной стадии до и после лечения. На фоне изменений этих показателей не наблюдается снижения иммунологических параметров.

Ключевые слова: ХПН, ПОЛ, церулоплазмин, иммуноглобулины.

ВВЕДЕНИЕ. Согласно современным представлениям, свободнорадикальные реакции относят к фундаментальным процессам, обеспечивающим нормальную жизнедеятельность организма и участвующим в развитии большинства форм патологии. Многочисленными экспериментальными и клиническими наблюдениями доказано участие активных форм кислорода (АФК) и инициируемого ими перекисного окисления липидов (ПОЛ) в патогенезе многих заболеваний, в том числе хронической почечной недостаточности (ХПН).

Важнейшим звеном патогенеза ХПН является дестабилизация мембранных структур, характеризующаяся количественными и качественными изменениями липидного бислоя плазматических мембран клеток. Различные этиологические факторы, такие, как воспаление, ишемия тканей приводят к изменению активности мембранных ферментов, что может приводить к сдвигам в липидной структуре клеточных мембран и активации процессов перекисидации, которые, в свою очередь, формируют симптомокомплекс нарушения почечных функций, интоксикации и иммунной недостаточности [1]. Нарушение нормального функционирования иммунной системы способствует генерализации воспалительных процессов, развитию осложнений, снижению или отсутствию клинического эффекта от базисной терапии, увеличению летальности [2].

* - адресат для переписки

СВЯЗЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПОЛ, АОЗ И ИММУНОЛОГИИ ПРИ ПОЧЕЧНОЙ ПАТОЛОГИИ

В патогенезе ХПН существенную роль играет дисбаланс между перекисным окислением липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты (АОЗ). Причиной повышения ПОЛ в органах и тканях может быть как усиление генерации активных кислородных метаболитов нейтрофилами, так недостаточная эффективность антиоксидантов [3].

В настоящее время накоплено много данных относительно роли перекисного окисления липидов в образовании перекисно-модифицированных липопротеинов (ЛП) и развитии почечных патологий [4]. Вместе с тем, активные формы кислорода, запуская процесс свободнорадикального окисления с образованием свободных радикалов ($O_2^{\cdot-}$, HO_2^{\cdot} , HO , OH^{\cdot}), в первую очередь, воздействуют на функционально активные белки, что в свою очередь является одной из причин инактивации ферментов, иммуноглобулинов и т.д.

Целью исследования являлось изучение состояния ПОЛ и антиоксидантной защиты (АОЗ) в плазме крови у больных ХПН и изменение на этом фоне некоторых иммунологических данных в зависимости от степени тяжести патологического процесса.

МЕТОДИКА. Биохимические и иммунологические анализы проведены у 95 больных ХПН, из них у 51 больных была начальная, у 44 больных терминальная стадия заболевания. Контрольную группу составили 20 практически здоровых человек. Больные ХПН находились на лечении в отделении нефрологии Центральной Больницы Нефтяников Нефтяной компании Республики Азербайджан. Диагноз устанавливали на основании анамнестических, клинических и биохимических данных. Уровень креатинина и мочевины определяли с помощью набора реактивов “Lachema” (Чехия). Содержание кальция и фосфора исследовали с помощью набора реактивов “Human” (Германия).

Процессы ПОЛ количественно исследовали спектрофотометрическим методом, определяя содержание в сыворотке крови диеновых конъюгатов – первичных продуктов ПОЛ и малонового диальдегида (МДА) – одного из вторичных продуктов.

Диеновые конъюгаты (ДК), образующиеся в результате миграции двойной связи в полиненасыщенных жирных кислотах, определяли по Гаврилову [5]. После экстракции в смеси гептан-изопропанол (2:1) и последующего наслаивания HCl (рН 2,0), диеновые конъюгаты выявляли в гептановой фазе при 233 нм, используя коэффициент молярной экстинкции ДК - $2,2 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. Количество диеновых конъюгатов выражали в $D_{232}/\text{мл}$ сыворотки.

Принцип метода определения малонового диальдегида основан на образовании при высокой температуре окрашенного триметинового комплекса с тиобарбитуровой кислотой [6]. Определение оптической плотности окрашенного комплекса после его экстракции n-бутанолом проводили при длине 532 нм в сравнении с контрольной пробой. Молярная экстинкция МДА - $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. Концентрация малонового диальдегида выражалась в нмоль/мл сыворотки.

Систему АОЗ оценивали по уровню медьсодержащего фермента церулоплазмينا (ЦП), определяемого методом Ревина [7]. Исследования проводили на начальной-консервативной и терминальной стадии заболевания до и после лечения. Консервативное лечение включало малобелковую диету, коррекцию гиперазотемии, кислотно-щелочного и водно-электролитного дисбаланса, гипертонии и нарушений со стороны сердечно-сосудистой системы. Терминальная группа регулярно 3 раза в неделю подвергалась гемодиализу, продолжительностью 3-4 ч.

Содержание иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA) в сыворотке крови определяли методом радиальной иммунодиффузии по Mancini и соавт. [8].

Статистическую обработку данных проводили непараметрическим методом с помощью критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. На фоне изменений основных биохимических показателей (табл. 1) у больных ХПН установлено закономерное возрастание содержания МДА и ДК в сыворотке крови с максимальными

значениями у больных терминальной группы до лечения (табл. 2). Уровень восстановленного глутатиона (GSH), наоборот, снижался в зависимости от степени тяжести заболевания. Так, уровень МДА у больных ХПН консервативной группы до лечения увеличивался в 2,4 раза, после лечения показатель снижается; в первой – консервативной группе – снижение происходило практически до уровня нормальных показателей, у больных терминальной группы применяемые методы лечения (в основном диализ) заметно снижали концентрацию МДА в сыворотке крови, однако нормальных значений показатели не достигали. Почти такая же динамика изменения наблюдается для диеновых конъюгатов (ДК). У больных консервативной группы отмечено увеличение в 1,7 раза, в терминальной группе в - 1,9 раза, в результате лечения показатели снижались в первой группе в 1,3 раза, во второй - в 1,7 раза.

Таблица 1. Некоторые биохимические показатели у больных с ХПН по сравнению с контролем.

Группа больных	Креатинин, мкмоль/л	Мочевина, ммоль/л	Общий белок, г/л	Альбумин, г/л
Консервативная группа n=51				
До лечения	667,43 ± 18,83*	16,41±0,53*	64,62 ± 0,93*	36,78 ± 0,58*
После лечения	345,09 ± 18,90*	12,85±0,66*	70,46 ± 0,68*	39,93 ± 0,71*
Терминальная группа n=44				
До лечения	852,06 ± 14,78*	19,69 ± 0,68*	71,1 ± 1,67**	40,18 ± 0,63*
После лечения	608,92 ± 16,05*	16,15 ± 0,7*	66,33 ± 1,39*	36,3 ± 0,71*
Контрольная группа n=20				
	81,8±2,38	5,87 ± 0,31	78,45 ± 1,31	44,6 ± 1,17

Примечание: * p<0,001; ** p<0,01.

Таблица 2. Показатели ПОЛ у больных с ХПН по сравнению с контролем.

Группы больных и показатели	МДА, нмоль/мл	ДК, D ₂₃₂ /мл	GSH, ммоль/мл
Контрольная группа n=20	2,85 ± 0,11	0,4 ± 0,01	0,54 ± 0,02
Консервативная группа n= 30			
До лечения	6,72 ± 0,14*	0,69 ± 0,02*	0,39 ± 0,01*
После лечения	4,73 ± 0,2*	0,53 ± 0,02*	0,47 ± 0,02*
Терминальная группа n=42			
До лечения	7,91 ± 0,26*	0,75 ± 0,02*	0,44 ± 0,02*
После лечения	6,38 ± 0,19*	0,66 ± 0,01*	0,46 ± 0,02***

Примечание: * p<0,001; *** p<0,05.

СВЯЗЬ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПОЛ, АОЗ И ИММУНОЛОГИИ ПРИ ПОЧЕЧНОЙ ПАТОЛОГИИ

В данной работе впервые у больных ХПН уровень антиоксидантной защиты (АОЗ) была оценена по концентрации церулоплазмина (табл. 3).

Таблица 3. Уровень церулоплазмина в плазме крови у больных ХПН по сравнению с контролем.

Контрольная группа n=20	27,85 ± 0,45 мг%
Консервативная группа n= 30 До лечения После лечения	15,49 ± 0,54* 16,16 ± 0,57*
Терминальная группа n=42 До лечения После лечения	15,18 ± 0,48* 16,84 ± 0,83*

Примечание: * p < 0,001.

Уровень ЦП в плазме крови у больных консервативной группы снижался в сравнении с показателями здоровых; после применения соответствующего лечения наблюдалось заметное повышение. По-видимому, это объясняется хорошо скомпенсированной реакцией организма на активацию процессов ПОЛ на этой стадии заболевания. На терминальной стадии заболевания наблюдалось достоверное снижение уровня ЦП, что вероятно, связано с истощением и недостаточностью системы АОЗ. После гемодиализа одновременно с нормализацией состояния больных наблюдалось повышение этого показателя, который оставался, однако, существенно ниже нормы.

Таким образом, на высоте интоксикации у больных ХПН отмечалась активация процесса ПОЛ со снижением уровня общей АОЗ и одного из её основных компонентов – ЦП. В результате проведенных исследований обнаружено повышение активации ПОЛ при ХПН, зависящего от стадии заболевания, от тяжести патологического процесса, а также от варианта применяемого лечения. Уменьшение содержания ЦП при ХПН связано очевидно, с истощением этого звена АОЗ.

Иммунологические данные (табл. 4) не претерпевают существенных количественных изменений на фоне биохимических данных и показателей ПОЛ и АОЗ.

Таблица 4. Некоторые иммунные показатели у больных ХПН по сравнению с контрольной группой.

Показатели	Контрольная группа n=20	Консервативная группа n=30		Терминальная группа n=42	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
IgG, мг/мл	14,5 ± 1,2	15,04 ± 0,29	15,32 ± 0,33	14,48 ± 0,33	14,71 ± 0,36
IgM, мг/мл	2,18 ± 0,2	2,22 ± 0,02	2,28 ± 0,03	2,25 ± 0,02	2,14 ± 0,02
IgA, мг/мл	1,75 ± 1,1	2,09 ± 0,04*	2,1 ± 0,02*	2,11 ± 0,03*	2,03 ± 0,02*

Примечание: * p < 0,001.

Иммунодефицитные состояния наблюдаемые при хронической почечной недостаточности, возможно, объясняется не количественными, а качественными изменениями в В-системе иммунных реакций организма. Эти данные косвенно доказывают наличие метаболической супрессии активности иммуноглобулинов в результате формирования неактивной конформации антител.

ВЫВОДЫ.

1. При ХПН наблюдаются закономерное повышение содержания МДА и ДК в сыворотке крови и снижение уровня ЦП, зависящие от стадии заболевания и глубины патологического процесса.

2. На консервативной и терминальной стадиях заболевания на фоне высокого уровня продуктов ПОЛ наблюдается дефицит АОЗ организма.

3. На фоне вышеизложенной динамики изменения состояния ПОЛ и АОЗ, не наблюдается существенных количественных изменений в иммунных показателях.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* (1972) Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.
2. *Матвеев С.Б., Марченко В.В., Попова Т.С., Голиков П.П.* (1999) Вопросы мед. химии, **45**, 140-144.
3. *Коробейникова Э.Н., Кудревич Ю.В.* (2006) Клиническая лаб. диагностика, №4, 22-24.
4. *Куликова А.И., Тугушева Ф.А., Зубина И.М.* (2001) Нефрология, №3, 134.
5. *Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара И.Ф.* (1988) Лаб. дело, №2, 60-64.
6. *Коробейников Э.Н.* (1986) Лаб. дело, №12, 725-728.
7. *Камышиников В.С.* (2000) Справочник по клинико-биологической лабораторной диагностике. – Минск, 219 с.
8. *Manchini G., Nach D.R., Heremans J.F.* (1970) Immunochem., **7**, 261-264.

Поступила: 15. 02. 2008.

INVESTIGATION OF RELATION BETWEEN LPO, AOD AND SOME IMMUNE PARAMETERS IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE

G.I. Azizova, A.M. Efendiyev

Department of Biochemistry, Azerbaijan Medical University, st. Mardanov kardashlari 98, Baku, AZ1078; tel.: (+99412) 495 39 53; e-mail: gulib18@mail.ru

Time course of lipid peroxidation and the state of antioxidant system of patients with chronic kidney disease were studied. Increases of conjugated dienes, malonic dialdehyde, lipid peroxidation degree were found. Alterations in ceruloplasmin activity, observed in blood of patients depended on the stage of the disease. Content of lipid peroxidation products was also dissimilar during the first and the second stage of disease. Estimation of ceruloplasmin activity and content of conjugated dienes were the most suitable parameters for monitoring treatment of chronic renal disease.

Key words: chronical kidney deficiency, LPO, ceruloplasmin, immunoglobulines.