

Ахматов А.,  
Каримова Н.А.,  
Аралов М.Д.,  
Эргашев А.Х.,  
Рахмонов Ю.А.,

## СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА ПРИ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТЕ У ДЕТЕЙ В УСЛОВИЯХ ЖАРКОГО КЛИМАТА УЗБЕКИСТАНА

СамГосМИ (ректор - проф.Ша.мсиев А.М.)

**Актуальность.** Широкая распространенность гломерулонефрита в детском возрасте, склонность к хронизации, трудности диагностики настоятельно требуют выяснения патогенетической сущности отдельных проявлений, поиска эффективных методов лечения [5;11;]. В последние годы наряду с иммунологическими генетическими факторами в свете новых достижений клинической мембранологии внимание клиницистов привлекли клеточные молекулярные основы возникновения и течения гломерулонефрита у детей [1]. Согласно данным представлениям, реализация как иммунных, так и неиммунных нефропатий у детей связана с реакциями клеточных мембран нефрона [11,12]. Среди многочисленных факторов, приводящих к структурнофункциональной дестабилизации клеточных мембран, наибольшее значение имеет чрезмерная активация реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) и эндогенных фосфолипаз (ФЛаз) [1,10]. Большое значение в регуляции приспособительных реакций к стресс факторам придают состоянию системы ПОЛ-АОЗ (антиокислительная защита) организма [7]. Изучение состояния ПОЛ и системы ДООЗ при заболеваниях почек, в первую очередь, на фоне ХГН, представляется важным направлением в современной клинической нефрологии [2;11;12;13;14]. В процессе прогрессирования ХГН у детей также имеют место срыв и несовершенство адаптационных механизмов поддержания стационарного уровня содержания ФЛ в мембранах клубочков. В них проявляется уменьшение содержания суммарного уровня ФЛ, а также отдельных классов ФЛ - фосфатидилсерина (ФС), фосфатидилэтаноламина (ФЭА), а в дальнейшем - фосфатидилхолина (ФХ) и сфингомиелина [1;4;12]. Снижение ФЛ, в свою очередь, связано с активацией эндогенных ФЛаз, что проявляется выраженным накоплением лизо-форм ФЛ [13;14]. Таким образом, при ХГН, который в первую очередь является иммунной нефропатией, мембранные образования клубочка подвергаются повреждающему воздействию иммунных комплексов и антител к базальной мембране при участии активированной системы комплемента, макрофагов, нейтрофилов и мезангиальных клеток. Клетки начинают интенсивно вырабатывать свободные радикалы кислорода, происходит стимуляция ПОЛ, экзогенных ФЛаз и протеаз. Высокая и пролонгированная активность ФЛаз и ПОЛ, модификация липидной фазы клеточной мембраны нефрона на фоне несостоятельности ДООС может быть существенным фактором, определяющим тяжесть и исход заболевания почек. Показано, что при гломерулонефрите эти процессы могут проявлять высокую степень активности и коррелировать с клиническими проявлениями заболевания [4]. В то же время, известна высокая метеочувствительность гломерулонефрита [6]. Новые патогенетические механизмы развития нефропатий, установленные в

последние годы, нацеливают на перспективность проведения соответствующих лечебных и профилактических мероприятий в зонах с возможными экстремальными воздействиями факторов внешней среды, особенно в отношении улучшения механизмов мембранной адаптации, что создаст реальные предпосылки для разработки дифференцированных методов коррекции патологических нарушений и принципов профилактики нефропатий у детей с учетом региональных особенностей климатогеографических условий.

**Целью работы** явилось исследование состояния стабильности клеточных мембран и антиоксидантной защиты организма у детей больных гломерулонефритом в климатических условиях Узбекистана и оценка эффективности мембраностабилизирующего препарата эссенциале в комплексной терапии хронического гломерулонефрита.

**Объем и методы исследования.** Среди госпитализированных в специализированный нефрологический стационар, где проводилась наша работа, больные с гломерулонефритом составили 26,4%. Анализ 564 историй болезней больных гломерулонефритом показал, что наибольшее число поступивших больных с острым гломерулонефритом (ОГН) приходилось на месяцы, переходные от зимы к весне (февраль-март) и от лета к осени (август-сентябрь), а больные с обострением хронического гломерулонефрита (ХГН) чаще поступали в период с июля по октябрь месяцы. Следовательно, на основании вышеуказанных данных можно предположить отягчающее влияние длительной тепловой нагрузки на течение и исход гломерулонефрита. Нельзя исключить возможную роль возникающей при этом гипоксии и гипоксемии, вследствие тепловой нагрузки, а также нарушение баланса перекисного окисления липидов (ПОЛ) - антиоксидантной системы (ДООС). В различные сезоны года обследованы 69 детей с ОГН и 59 с ХГН. Кровь и мочу для анализов у больных брали в период активности ОГН и обострения ХГН, в первые дни поступления в стационар. Об интенсивности ПОЛ судили по содержанию в мембранах эритроцитов и моче диеновых конъюгат (ДК) ненасыщенных жирных кислот по методу И.Д. Стальной (1979).

активность эритроцитов определялась по методу Х. Брокерхоф и Р. Джексен (1978). Для характеристики состояния активности ФЛаз почечной ткани мы определяли активность в моче ФЛазы А<sub>2</sub> мочи по С.А. Тужилиной и А. И. Салуэнья (1975) в модификации Ю.Н. Кожевникова (1981). О структурном состоянии цитомембран судили по фосфолипидному спектру мембран эритроцитов, которые определяли методом ТСХ на силикагеле (В.И. Крылов и соавт., 1975). Состояние АОЗ оценивали по активности супероксиддисмутазы (СОД) в мембранах эритроцитов (по методу В. Н. Чумакова и Л.Ф. Осинской, 1977), каталазы (по методу А. Баха и Н. Зубковой (1969) и пероксидазы (по методу Симакова в модификации Т. Попова с соавт. (1971) крови и по содержанию а-токоферола в плазме крови (определяли методом ТСХ на окиси алюминия (В.И. Крылов, Л.Д. Кондакова, 1978). Полученные данные обрабатывались методом вариационной статистики с применением критерия Стьюдента и считались достоверными при  $p < 0,05$ . Коэффициент корреляции ( $r$ ) высчитывался по И.Г. Лавровой (1984).

**Результаты и их обсуждение.** Полученные нами данные свидетельствуют о достоверном увеличении в эритроцитах и моче диеновых конъюгат (ДК) как у больных ОГН, так при обострении ХГН в сравнении с показателями здоровых. Установлено, что имеются отчетливые сезонные колебания интенсивности ПОЛ у обследованных больных (ДК крови -  $10,85 \pm 0,76$  нмоль/  $10^9$  эр., при норме  $5,72 \pm 0,59$ ; ДК мочи -  $12,42 \pm 1,12$ , при норме -  $4,71 \pm 0,38$  мкмоль/сутки).

Проведенные исследования активности фосфолипаз у больных показали значительное возрастание фосфолипазной активности мочи и крови по сравнению с контрольными показателями ( $p < 0,001$ ), и особенно в период длительной тепловой нагрузки, что по-видимому, связано с более выраженным мембранолизом в этот период, в результате чего повышается проницаемость клеточных мембран для цитоплазматических и лизосомальных ферментов. Подтверждением этого является обнаруженные нами изменения в структурнофункциональной организации эритроцитарных мембран у обследуемых больных.

Установлено, что у больных гломерулонефритом в мембранах красных клеток крови значительно повышены уровень цитотоксических фракций липидов - лизофосфатидилхолина (ЛФХ). Более высокие показатели у обследованных больных установлены в летний период ( $p < 0,001$ ). Одновременно отмечалось снижение уровня фосфатидилхолина (ФХ) - основного структурного компонента цитомембран и источника ЛФХ ( $p < 0,001$ ). Накопление лизоформ фосфолипидов изменяя текучесть и проницаемость клеточных мембран, неизбежно приводит к снижению резистентности и нарушению нормальной функции клеток. Подтверждением этого положения служит, установленные у обследуемых больных, достоверно низкие показатели механической стойкости ( $p < 0,001$ ) и деформируемости эритроцитов ( $p < 0,001$ ).

Выше изложенные свидетельствуют о значительном накоплении ЛФХ на фоне снижения

легкоокисляющихся форм фосфолипидов ФХ в мембранах эритроцитов, приводящие к снижению их резистентности. Вместе с тем, указанные процессы имеют выраженную сезонную вариабельность и усугубляются в период длительной тепловой нагрузки. Данные изменения соответствовали тяжести и динамике патологического процесса у обследуемых больных.

Известно, что между мембранодеструктивными процессами и резервом антиоксидантов в организме существует тесная функциональная взаимосвязь. Как показывают наши данные, у больных гломерулонефритом уровень а-токоферола и активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и пероксидазы в крови снижены и значительно колебались в зависимости от сезона года. Активность СОД мембран эритроцитов достоверно снижена у больных обеих групп по сравнению с показателями здоровых, но более значительно у больных обследованных в период длительной тепловой нагрузки ( $24,1 \pm 2,1\%$  - летом и  $33,4 \pm 1,8\%$  гемолиза - зимой). Активность каталазы крови у больных (летом -  $5,6 \pm 0,21$  ммоль/мл/мин, зимой -  $6,9 \pm 0,19$  ( $p < 0,001$ ), в то время как каталазная активность мочи была повышенной как у детей с ОГН ( $p < 0,001$ ), так и у больных ХГН ( $p < 0,001$ ).

Следовательно, у больных ОГН и ХГН отмечается снижение уровня эндогенного антиоксиданта - а-токоферола в сыворотке крови и активности антиоксидантных и антиперекисных ферментов в крови, при одновременном повышении активности последних в моче. Данные изменения усугубляются в период длительной тепловой нагрузки. Совокупность данных о состоянии цитомембран и антиоксидантной системы отражают тяжесть и динамику патологического процесса у больных гломерулонефритом. Подтверждением этого служит установленная взаимосвязь структурно-функциональных изменений клеточных мембран и механизмов их повреждения с клиническими проявлениями заболевания. При этом установлено, что выраженность отеочного синдрома коррелирует с уровнем ДК мочи, ЛФХ эритроцитов. активностью фосфолипазы мочи ( $r = +0,8743; +0,9120; +0,9346$ ;  $p < 0,05$ ), а протеинурия коррелирует с активностью каталазы и пероксидазы мочи ( $r = +0,9366; +0,9085$ ;  $p < 0,05$ ), показатели гематурии коррелируют с активностью СОД эритроцитов ( $r = -0,9229$ ;  $p < 0,05$ ), с уровнем ЛФХ эритроцитов ( $r = +0,8364$ ;  $p < 0,05$ ) и деформируемостью эритроцитов ( $r = -0,7992$ ;  $p < 0,05$ ).

У больных хроническим гломерулонефритом обострения чаще наблюдались весной и осенью и сопровождалась значительным истощением резерва антиоксидантной защиты по сравнению с показателями у больных острым гломерулонефритом. Установлено, что выявленные нарушения соответствует тяжести и динамике заболевания и усугублялись в период тепловой нагрузки. Следовательно, длительная тепловая нагрузка приводит к стимуляции ПОЛ и повышенному расходу антиоксидантов с последующим истощением их резерва у больных гломерулонефритом, что может служить предрасполагающим фактором рецидивов заболевания.

Это послужило основанием для включения препарата эссенциале в комплекс терапии гломерулонефрита у детей. Оптимальный состав, куда входят диглицеридэфир холинфосфорной кислоты природного происхождения в комбинации с ненасыщенными жирными кислотами, а также витамины группы В и токоферол ацетат, и положительное влияние на липидный обмен подтверждало правильность выбора его для включения в комплекс патогенетической терапии больных гломерулонефритом.

Для решения вопроса об эффективности эссенциале в комплексном лечении гломерулонефрита исследованы 2 группы больных в возрасте от 3 до 15 лет. Первую группу составили 21 больной гломерулонефритом (6 детей - ОГН с нефротическим синдромом и 15 ХГН нефротической формой), которые в комплексе патогенетической терапии получали ГК (контрольная группа). Вторую группу составили 21 больной гломерулонефритом (6 - ОГН с нефротическим синдромом и 15 - ХГН нефротической формой), которые одновременно с указанной терапией получали эссенциале. Сравнительная группа детей были идентичны по возрасту, характеру и давности заболевания, а также экстраренальным и ренальным проявлениям патологии.

Эссенциале назначался в виде внутривенных инъекций и внутрь из расчета 30-35 мг эссенциальных фосфолипидов на кг массы тела ребенка в сутки в течении 30-40 дней. Действие эссенциале начинало проявляться с 10-12 дня от начала лечения. В отличие от контрольной группы, которая не получила эссенциале, у больных получавших препарат, быстрее купировались отечный синдром, олигурия, мочевого синдром, улучшилось общее состояние, аппетит, нормализовались мышечный тонус и двигательная активность, значительно уменьшились размеры печени и селезенки у больных с гепатолиенальным синдромом, также установлены отчетливое улучшение азотовыделительной функции почек. Включение эссенциале в комплексную терапию ХГН нефротической формы показало положительное его на гиперхолестеринемии, в результате чего в конце цикла лечения холестерин плазмы значительно ( $p < 0,001$ ) снижался в сравнении с исходным уровнем.

Обнаруженные данные, у больных гломерулонефритом, получавших эссенциале в комплексной терапии, показали ингибирующее влияние его на интенсивность ПОЛ, активности ФЛаз, состояние АОЗ и структуры эритроцитарных мембран, которые существенно отличались по сравнению с результатами у детей, находившихся лишь на традиционном лечении. Так к концу лечения у больных, получавших эссенциале, значительно снижался уровень ДК в моче ( $p < 0,01$ ) и в мембранах эритроцитов ( $p < 0,001$ ), а также отмечалось снижение ФЛазной активности крови ( $p < 0,001$ ) и ФЛазы А<sub>2</sub> мочи ( $p < 0,001$ ). Этому соответствовало значительное повышение уровня СОД ( $p < 0,001$ ) в мембранах эритроцитов и повышение катиалазной ( $p < 0,001$ ) и пероксидазной ( $p < 0,001$ ) активности мочи у больных, получавших эссенциале, в отличие от больных, не получавших данный препарат.

Положительное влияние эссенциале на активность ферментов АОЗ и ингибирующее влияние на

процессы ПОЛ и активность ФЛаз у больных гломерулонефритом, по-видимому, связано с наличием в его составе ненасыщенных жирных кислот и природных антиоксидантов, что способствует повышению анти-окислительной активности мембранных липидов. тем самым стабилизации цитомембран. Подтверждением этого служило значительное повышение уровня ФХ ( $p < 0,001$ ) в мембранах эритроцитов, на фоне снижения уровня ЛФХ ( $p < 0,001$ ) и механической стойкости ( $p < 0,001$ ) и деформируемости ( $p < 0,001$ ) эритроцитов.

Установлено, что сочетанное применение ГК и эссенциале в комплексной терапии нефротического варианта гломерулонефрита у детей приводит к значительному сокращению продолжительности некоторых ренальных и экстраренальных проявлений заболевания и способствуют ускорению развития клиникобиохимической ремиссии. В основе положительного влияния данной терапии, по-видимому, лежит улучшение метаболизма глюкокортикоидов в печени и, с другой стороны, стабилизация структурно-функционального состояния цитомембран.

#### **Выводы**

1. Установлено, что у больных ОГН в стадии разгара и ХГН при обострении повышается активность ПОЛ клеточных мембран, активность ФЛаз эритроцитов и ФЛазы А<sub>2</sub> мочи, снижается уровень СОД эритроцитов, каталазная и пероксидазная активность мочи, а также процентное содержание ЛФХ в мембранах эритроцитов, снижается механическая стойкость и деформирующая способность красных клеток крови.

2. Установлено, что в возникновении, хронизации и прогрессировании гломерулонефрита важную роль играет такой немун-ный компонент, как «оксидативный стресс», который обуславливает накопление продуктов ПОЛ на фоне снижения АОЗ организма у детей.

3. У больных ОГН в период разгара и при обострении ХГН выявлена положительная

коррелятивная зависимость клинколабораторных проявлений заболевания (отежный синдром, протеинурия, гематурия) от выраженности дестабилизации клеточных мембран ( $r=+0.87; +0.93$ ) и отрицательная по отношению к активности СОД эритроцитов ( $r=-0.92$ ).

4. Применение эссенциале в составе комплексной терапии нефротической формы гло-

мерулонефрита приводит к сокращению продолжительности ренальных и экстраренальных проявлений заболевания, ускорению наступления клинколабораторной ремиссии. Клинической эффективности эссенциале соответствует уменьшение продуктов ПОЛ, снижение активности ФЛаз крови и мочи, улучшения структурно-функционального состояния эритроцитарных мембран.

#### Литература

1. Вельтищев Ю.Е. Проблемы мембранной патологии в педиатрии// Вопр.охран.мат.-1981.-№4.-С.3-9.
2. Гринштейн Ю.И. Роль липопероксидации в прогрессировании гломерулонефрита и почечной недостаточности// Нефрологический семинар.4-й; Сборник трудов.-СПб.;ТНА, 1996.-С. 132-133.
3. Жмуров В.А. Мембрано- и иммунологические аспекты гломерулонефрита// Санкт-Петербургский нефрологический семинар, 3-й: Сборник,- СПб.; ТНА.1995.-С. 178-181.
4. Жмуров В.А., Крылов В.И., Петрушина А.Д. Влияние антиоксидантов и мсклерона на процессы дестабилизации клеточных мембран при нефритах у детей//Вопр.мед.химии.-1987.-Т.33,№1.-С.40-43.
5. Игнатова М.С., Вельтищев Ю.Е. Детская нефрология.-Л.,-1982,-528с.
6. Ишкабулов Д., Ахматов А., Каримова Н.А., Тухватуллина Р.Р. Мембранные механизмы метеочувствительности больных гломерулонефритом, их особенности у детей с отягощенным нефрологическим анамнезом// «Проблемы детской нефрологии» IУ симпозиум педиатров - нефрологов соц. стран: Тезисы доклад,- Москва, -1986, -С. 45.
7. Крылов В.И., Жмуров В.А., Кожевников Ю.Н. и др. Антиоксидантная терапия диффузного гломерулонефрита у детей// Вопр. охран.мат.-1981.-4.-С.26-28.
8. Пелещук А.П., Мельман Н.Я., Анищенко В.М. и др. Влияние эссенциале на липидный обмен у больных с хронической почечной недостаточностью//Врач.дело.-1983.-№2.-С.24-26.
9. Ржевская О.Н., Коровина Н.А. Клинико-диагностическое и патогенетическое значение процессов перекисного окисления липидов при интерстициальном нефрите у детей// Урол.и нефрол.-1984.-№6.-С.56- 61.
10. Тугушева Ф.А., Зубина И.М., Митрофанова О.В. Оксидативный стресс и хроническая болезнь почек// Нефрология.- 2007.-Том 11,№3.-С.23-47.
11. Тугушева Ф.А. Процессы перекисного окисления липидов и защитная роль антиоксидантной системы в норме и у больных с хроническим гломерулонефритом. ЧастьII// Нефрология.-2001.-Том5,№2.-С.20-31.
12. Baran E.Ja., Nikulina J J., Korol L.V. The state of antioxidant system enzymes in terminal renal failure and after kidney allograft/Congress of the European Dialysis and Transplant Association - Eurpean Renal Association, XXXIII-rd; Abstracts.- Amsterdam. 1996.-P. 173.
13. Gwinner W., Grone H., J. Role of reactive oxygen species in glomtrulonephritis// Nepyrol.Dial.Transplant. - 2000.-Vol.15.N8.-P. 127-1132.
14. Richard M.J., Fmaud J., Jurkouvitz C.et al. Trace elements and lipid peroxidation abnormalities in patients with chronic renal failure//Nefron.-1991.-Vol.57,Nl.-P.10-15.