

СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСУ ТА РІВЕНЬ МЕДІАТОРІВ ЗАПАЛЕННЯ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ КАЛЬКУЛЬОЗНИЙ ПІЕЛОНЕФРИТ У ФАЗІ ЙОГО АКТИВНОГО ПЕРЕБІГУ

Хаддад Самі, О.В. Борисов

Одеський національний медичний університет

Вступ. Такі захворювання нирок, як піелонефрит і сечокам'яна хвороба, складають до 70% всієї урологічної патології. Ці захворювання з різною частотою зустрічаються у всіх вікових групах [1]. Сечокам'яну хворобу, в даний час, розглядають як наслідок порушення метаболічних процесів в організмі і випадання в осад сечі кристалів солей, білкових утворень, які в подальшому формуються у тверду субстанцію (конкремент). Захворювання зазвичай супроводжується запальним процесом. Воно зустрічається у 20% хворих з нирковою патологією. Встановити, чи є піелонефрит причиною каменеутворення або наслідком його, практично неможливо. Хронічний піелонефрит найчастіше супроводжує сечокам'яну хворобу [2].

Слід зазначити, що у більшості пацієнтів сечокам'яна хвороба і супутній піелонефрит виявляються в найбільш працездатному віці – у 30–50 років [3]. У зв'язку з цим особливого значення набуває пошук ефективних методів лікування і профілактики даного коморбідного стану.

Гістоензимологічні дослідження показали, що епітелій каналців нирок дуже багатий ферментами. При його пошкодженні вихід цих ферментів у сечу різко зростає. Розподілені ферменти в каналцевій системі нерівномірно. Найбільший їх вміст характерний для проксимальних каналців, в епітелії яких містяться N-ацетил-β-D-глюкозамінідаза, β-глюкуронідаза, β-галактозидаза, кисла і нейтральна, ±-глюкозидаза, лужна фосфатаза та інші. Всередині клітин ці ферменти також мають різну локалізацію: β-гексозамінідаза (N-ацетил-β-D-глюкозамінідаза), β-глюкуронідаза, β-галактозидаза і кисла α-глюкозидаза розташовуються на лізосомах, нейтральна α-глюкозидаза частково в цитозолі, частково в мембранах щіткової кайми (мембранозв'язана форма). Інші ферменти локалізуються в мітохондріях (сукцинатдегідрогеназа, глютаматдегідрогеназа, частково малатдегідрогеназа). Згідно з сучасними поглядами, у разі пошкодження ниркового каналцевого епітелію першими в

сечу виходять мембранозв'язані ферменти, потім ферменти лізосом і мітохондрій [2, 3, 4]. У даний час інтерес дослідників все більше викликають цитокіни, молекули міжклітинної адгезії, реактанти гострої фази, які відіграють важливу роль у розвитку системних функціональних і метаболічних розладів при хронічному і гострому калькульозному піелонефриті [5, 6]. Аналіз отриманих результатів показав, що одночасно з появою клінічних проявів загострення піелонефриту, в сечі різко збільшується вміст всіх маркерів запалення.

Останні не є органоспецифічними, тобто крім нирок вони містяться у значних кількостях в інших органах і тканинах, ураження яких запальним процесом може сприяти посиленому виходу їх у плазму крові і потім збільшення їх екскреції з сечею. Це пояснює особливий інтерес дослідників до ідентифікації медіаторів запалення, що мають виключно ниркове походження, екскреція яких з сечею не залежить від стану інших органів і тканин [2, 7].

Мета дослідження: вивчити стан прооксидантно-антиоксидантного балансу та рівень медіаторів запалення у хворих на хронічний калькульозний піелонефрит у фазі його активного перебігу.

Матеріали і методи дослідження. Обстежено 41 хворого на хронічний калькульозний піелонефрит у фазі загострення, яких спостерігали на кафедрі урології та нефрології Одеського національного медичного університету, на базі КУ «Міської клінічної лікарні № 10». Серед них було 30 жінок і 11 чоловіків віком від 21 до 73 років (середній вік становив $53,8 \pm 1,1$ року). Отримані дані були зіставлені з даними в контрольній групі, яка складалася з 27 практично здорових осіб, що добровільно погодилися взяти участь у дослідженні. Серед них було 9 чоловіків і 18 жінок віком від 23 до 68 років, середній вік становив $(51,6 \pm 1,3)$ року.

Біохімічні показники визначали за загальноприйнятими методами в крові та сечі хворих

на хронічний калькульозний пієлонефрит у фазі активної течії. У крові та сечі визначали активність ферментів (НАДФН-оксидази в крові і N-ацетил-β-D-глюкозамінідази в сечі), вміст тіолових і дисульфідних груп білків, лейкотрієна В4 і простагландину Н2, малонового діальдегіду (МДА) і дієнових кон'югатів. Вміст тіолової і дисульфідної форм глутатіону визначали в депротейнізованому і нейтралізованому екстракті крові [6, 7].

Результати та їх обговорення. Отримані нами дані відзначили статистично достовірну ($P < 0,05$) зміну біохімічних показників у крові та сечі в групі хворих на хронічний калькульозний пієлонефрит у порівнянні з контрольною групою. Відомо, що реакції перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) є вільнорадикальними і постійно відбуваються в організмі. У результаті

проведеного дослідження про вміст тіолової і дисульфідної форми глутатіону і продуктів перекисного окислення ліпідів, а саме малонового діальдегіду і дієнових кон'югатів у крові (рис. 1), а також про рівень тіолових і дисульфідних груп білків у крові та сечі (рис. 2) дані свідчать про наявність в організмі хворих на хронічний калькульозний пієлонефрит вираженого стану оксидативного стресу і порушення прооксидантно-антиоксидантного балансу. В результаті руйнується структура білків, між ними утворюються ковалентні «зшивання», все це активує протеолітичні ферменти в клітині, що гідролізують пошкоджені білки. Активні форми кисню легко порушують і структуру ДНК. Неспецифічне зв'язування Fe^{2+} + молекулою ДНК полегшує утворення гідроксильних радикалів, які руйнують структуру азотистих основ. Але



Рис. 1. Динаміка показників активності прозапальних факторів і метаболічних процесів у крові хворих на хронічний калькульозний пієлонефрит у фазі активного перебігу ($n = 41$) в порівнянні з контрольною групою ($n = 27$), ($P < 0,05$); 1 – глутатіон відновлений; 2 – глутатіон окислений; 3 – тіолові групи білків; 4 – дисульфідні групи білків; 5 – НАДФН-оксидаза; 6 – лейкотрієн В; 7 – простагландин Н2; 8 – малоновий діальдегід; 9 – дієнові кон'югати



Рис. 2. Динаміка показників активності прозапальних факторів і метаболічних процесів у сечі хворих на хронічний калькульозний пієлонефрит у фазі активного перебігу ($n = 41$) у порівнянні з контрольною групою ($n = 27$), ($P < 0,05$); 1 – N-ацетил-β-D-глюкозамінідаза; 2 – тіолові групи білків; 3 – дисульфідні групи білків; 4 – лейкотрієн В4; 5 – простагландин Н2

найбільш піддаються впливу активних форм кисню жирні кислоти, що містять подвійні зв'язки, розташовані через СН₂-групу. Саме від цієї СН₂-групи вільний радикал (ініціатор окислення) легко забирає електрон, перетворюючи ліпід, що містить цю кислоту, у вільний радикал.

Так само, нами виявлено збільшення концентрації лейкотрієну В₄ (ЛТВ₄) і простагландину (ПГ 2Е) як у плазмі крові, так і в сечі пацієнтів із хронічним калькульозним пієлонефритом. Відомо, що ЛТВ₄ – найважливіша хемотаксична речовина для лейкоцитів і макрофагів, що паралельно стимулює підвищену проникність судин і втягує в запальний процес. Міграція нейтрофілів у тканини є відмінною рисою численних гострих запальних реакцій і представляє дуже регульований багатоетапний процес, який управляється за допомогою запальних посередників – лейкотрієну В₄ і простагландину.

Екскреція лізосомального ферменту N-ацетил-β-D-глюкозамінідази з сечею є чутливим і раннім якісним і кількісним маркером каналцевого пошкодження нирок (тубулярного ушкодження). Найбільш висока активність ферменту нами виявлена в сечі, куди фермент секретується епітелієм проксимальних каналців і бере участь у деградації мукополісахаридів і глікопротеїнів. У нормі через високу молекулярну масу (150 000 Да) фермент не проходить через гломерулярний бар'єр. При пошкодженні клітин епітелію відбувається вивільнення ферменту, що призводить до збільшення його концентрації в первинній сечі. Сечова екскреція ферменту є раннім маркером ураження нирок і зниження фільтраційної функції.

Серед функціональних груп білкових молекул високою реакційною здатністю і різноманітністю хімічних реакцій виділяються сірковмісні, особливо сульфгідрильні (тіолові) групи, необхідні для прояву біологічної активності і підтримки макромолекулярної структури багатьох білків. Дослідженням було виявлено зниження тіолових груп білків на 20% у крові, і на 15% у сечі пацієнтів із хронічним калькульозним пієлонефритом, у порівнянні з контрольною групою. Тіолові групи (SH-групи) не утворюють у білках будь-яких внутрішньомолекулярних ковалентних зв'язків, крім дисульфідних і зв'язків, опосередкованих через іон металу. Нами виявлено зростання вмісту дисульфідних груп білків з $324,26 \pm 28,57$ мкмоль/л у контрольній групі до $373,87 \pm 30,49$ мкмоль/л у пацієнтів із хронічним калькульозним пієлонефритом у крові, і в сечі з $380,25 \pm$

$26,90$ мкмоль/л до $436,52 \pm 38,24$ мкмоль/л відповідно, що також може свідчити про посилення процесів перекисного окислення ліпідів, пошкодження білково-ліпідних компонентів мембран клітин і як результат негативно впливають на функціональний стан органа.

Тіолові групи (SH-групи) не утворюють у білках будь-яких внутрішньомолекулярних ковалентних зв'язків, крім дисульфідних, і зв'язків, опосередкованих через іон металу. Нами виявлено зростання вмісту тіолових і дисульфідних груп білків як у крові, так і в сечі пацієнтів із хронічним калькульозним пієлонефритом, що також може свідчити про посилення процесів перекисного окислення ліпідів, пошкодження білково-ліпідних компонентів мембран клітин і як результат негативно впливають на функціональний стан органа.

Істотне зниження потенціалу відновлювальної системи глутатіону в крові і тіолових груп білків у крові та сечі є важливою ланкою механізму порушень тіол-дисульфідного статусу у хворих. Збільшення рівня продуктів перекисного окислення ліпідів і вільних радикалів при патологічних процесах, зокрема у хворих із загостренням хронічного калькульозного пієлонефриту, можуть пошкоджувати білково-ліпідні компоненти мембран клітин, а накопичення дисульфідних груп і зниження тіолових груп, викликає порушення їх співвідношення і, як результат, призводить до зміни структурно-функціональних властивостей білків, що в цілому може негативно відбиватися на функціях тканин і органів.

Наведені результати вмісту в крові (рис. 1) маломовного діальдегіду і дієнової кон'югати (відповідно кінцевий і проміжний продукти процесу перекисного окислення ліпідів) свідчать про інтенсифікацію ПОЛ (ланцюгових реакцій з утворенням вільних радикалів, часток, що мають неспарений електрон, які ініціюють подальше поширення перекисного окислення) з накопиченням кінцевого або проміжного продуктів ПОЛ. У процесі посилення перекисного окислення ліпідів, його продукти пошкоджують білково-ліпідні компоненти мембран клітин, що може негативно відбиватися на функціях тканин і органів.

Проведене нами дослідження активності ферменту НАДФН-оксидази в крові, яка є клітинним мембрано-пов'язаним ферментним комплексом, показало її активацію (більше ніж на 20% у порівнянні з контрольною групою, $P < 0,05$), що може сприяти підвищеному рівню супероксидного радикала при окислюванні

НАДФН. При хронічному процесі підвищене використання відновленої форми НАДФН, необхідної для регенерації відновленого глутатіону, може призводити до виснаження ферментних систем, що беруть участь в її синтезі.

Крім того, НАДФН-оксидаза є клітинним мембрано-пов'язаним ферментним комплексом, який локалізується на плазматичній мембрані і в деяких органелах. Оксидази макрофагів, наприклад, беруть участь у клітинній протимікробній захисній системі та інших процесах. При реакції, що каталізується НАДФН-оксидазою, НАДФН окислюється в НАДФ⁺ з утворенням на зовнішній стороні клітини супероксидного радикала. Інтенсивність генерації активних форм кисню, зокрема нейтрофілами, визначається в основному активністю НАДФН-оксидази.

Висновки

Таким чином, можна вважати, що виявлені метаболічні зміни та стан відновного потенціалу глутатіонової системи в організмі пацієнтів є важливою ланкою в патогенезі розвитку активного запалення у хворих на хронічний калькульозний пієлонефрит. Отримані дані можна розглядати як клініко-біохімічне обґрунтування доцільності корекції порушень тіолового статусу та вивчення її ефективності в умовах клініки.

У всіх спостережуваних пацієнтів в активній фазі хронічного калькульозного пієлонефриту істотно підвищувався рівень досліджуваних ейкозаноїдів ($P < 0,05$), що свідчило про наявність

запалення в нирках, що не виявляється за допомогою традиційних методів діагностики. Активність хронічного запального процесу сприяє підвищенню концентрацій у сечі Простагландину E2 на 146,30%, лейкотрієну B4 на 143,50% і N-ацетил- β -D-глюкозамінідази на 136% у порівнянні з контрольною групою і відображає високу інформативність і універсальність цих показників для хронічного калькульозного пієлонефриту.

Встановлено, що у хворих на хронічний пієлонефрит у стадії загострення спостерігається підвищення вмісту тіолової і дисульфідної форми глутатіону і продуктів перекисного окислення ліпідів, а саме малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів у крові, а також тіолових і дисульфідних груп білків у крові та сечі, що свідчать про наявність в організмі хворих вираженого стану оксидативного стресу і порушення антиоксидантно-прооксидантного балансу.

Отримані дані можуть стати теоретичною основою для розробки поглиблених досліджень, які дозволять детальніше зрозуміти патофізіологічні механізми виникнення порушень прооксидантно-антиоксидантного балансу та змін активності медіаторів запалення у хворих на хронічний калькульозний пієлонефрит у фазі загострення, оцінити чутливість та специфічність методів ранньої діагностики та розробити принципи ефективної профілактики та терапії цих важких станів.

Список літератури

1. *Функциональное состояние почек и прогнозирование сердечно-сосудистого риска. В: Национальные клинические рекомендации. Сборник / Под ред. Р.Г. Оганова. – 3-е изд. – М.: Силица–Полиграф, 2010. – С. 558–584.*
2. *Campbell R.C., Sui S., Filippatos G. et al. Association of chronic kidney disease with outcomes in chronic heart failure: a propensity-matched study // Nephrol Dial Transplant. – 2009. – V. 24. – P. 186–193.*
3. *Bagshaw S.M., Lapinsky S., Dial S. et al. Acute kidney injury in septic shock: clinical outcomes and impact of duration of hypotension prior to initiation of antimicrobial therapy // Intensive Care Med. – 2009. – V. 35. – P. 871–881.*
4. *Ronco C. NGAL: an emerging biomarker of acute kidney injury // Int. J. Artif. Organs. – 2008. – V. 31. – P. 199–200.*
5. *Патогенетическое значение динамики цитокинов при хроническом обструктивном пиелонефрите у детей / Н.А. Пекарева, А.В. Чупрова, С.А. Лоскутова и др. // Педиатрия. – 2008. – Т. 87, № 3. – С. 23–27.*
6. *Rizvi, A. Cytokine Biomarkers, Endothelial Inflammation, and Atherosclerosis in the Metabolic Syndrome: Emerging Concepts / A. Rizvi // American Journal of the Medical Sciences. – 2009. – V. 338, N 4. – P. 310–318.*
7. *Coresh J., Stevens L., Levey A. Chronic kidney disease is common: What do we do next? // Nephrol. Dial. Transplant. – 2008. – V. 23, N 8. – P. 1122–1125.*

Реферат

СОСТОЯНИЕ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА И УРОВЕНЬ МЕДИАТОРОВ ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ КАЛЬКУЛЕЗНЫМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ В ФАЗЕ ЕГО АКТИВНОГО ТЕЧЕНИЯ

Хаддад Сами, А.В. Борисов

Целью нашего исследования было изучить состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса и уровень медиаторов воспаления у больных хроническим калькулезным пиелонефритом в фазе активного течения. Обследование было проведено у 41 больного, 30 женщин и 11 мужчин (средний возраст составил $53,8 \pm 1,1$ года). Полученные данные были сопоставлены с данными в контрольной группе, которая состояла из 27 практически здоровых лиц. Обнаруженные метаболические изменения и состояние восстановительного потенциала глутатионовой системы в частности, в организме пациентов является важным звеном в патогенезе развития активного воспаления у больных с хроническим калькулезным пиелонефритом. У всех наблюдаемых пациентов существенно повышался уровень исследуемых эйкозаноидов ($P < 0,05$), что свидетельствовало о наличии воспаления в почках, не выявляемого с помощью традиционных методов диагностики. Установлено, что у больных в контрольной группе наблюдается повышение содержания тиоловой и дисульфидной формы глутатиона и продуктов перекисного окисления липидов, а именно малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в крови, а также тиоловых и дисульфидных групп белков в крови и моче, свидетельствующих о наличии в организме больных выраженного состояния оксидативного стресса и нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса.

Ключевые слова: хронический калькулезный пиелонефрит, прооксидантно-антиоксидантный баланс, медиаторы воспаления.

Адреса для листування

Хаддад Самі
E-mail: sami_haddad@mail.ru

Summary

STATUS PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE AND LEVEL OF INFLAMMATORY MEDIATORS IN PATIENTS WITH CHRONIC CALCULOUS PYELONEPHRITIS ACTIVE PHASE CURRENTS

Haddad Sami, A.V. Borisov

The purpose of our study was to examine the state of prooxidant-antioxidant balance and level of inflammatory mediators in patients with chronic calculous pyelonephritis in a phase of active flows. The survey was conducted in 41 patients, 30 women and 11 men (mean age $53,8 \pm 1,1$ years). The data obtained were compared with data in the control group, which consisted of 27 healthy individuals. Detected changes and metabolic condition of the glutathione redox potential in particular in the body of patients is an important link in the pathogenesis of inflammation in patients with active chronic calculous pyelonephritis. All observed patients significantly increases the level of eicosanoids studied ($P < 0.05$), indicating the presence of inflammation in the kidney, is not detectable by conventional diagnostic methods. Found that patients in the control group is observed increase in the content of the thiol and disulphide forms of glutathione and lipid peroxidation products, namely malondialdehyde and diene conjugates in the blood, as well as disulfide and thiol groups of proteins in the blood and urine, indicating the presence in the body of patients expressed the state of oxidative stress and antioxidant-prooxidant violation of balance.

Keywords: chronic calculous pyelonephritis, prooxidant-antioxidant balance, inflammation mediators.