

Р.О. Бегляров

## Оценка прооксидантно-антиоксидантной системы у детей со смешанной формой хронического гломерулонефрита

Азербайджанский медицинский университет, Баку

**Резюме.** Исследовано состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у 88 детей со смешанной формой хронического гломерулонефрита в возрасте  $13,84 \pm 1,75$  лет. Контрольную группу составили 30 здоровых детей. Применены клинические, лабораторные и инструментальные методы исследования. Интенсивность перекисного окисления липидов оценивалась по уровню диеновых конъюгатов и малонового диальдегида. Состояние антиоксидантной системы определяли по активности каталазы, восстановленного глутатиона, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы. Выявлено достоверное увеличение диеновых конъюгатов в эритроцитах – на 88,3% ( $p < 0,01$ ) и малонового диальдегида в плазме крови и эритроцитах соответственно на 67,5 и 83,4% ( $p < 0,01$ ). Обострение патологического процесса увеличивало накопление первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов. Концентрация каталазы в плазме и эритроцитах в среднем была ниже контрольной соответственно на 19,4 и 26,2% ( $p < 0,05$ ); восстановленного глутатиона – на 17,1%, в эритроцитах – на 41,9% ( $p < 0,05$ ). Достоверно низкий уровень глутатионпероксидазы определялся в плазме крови (20,6%) и в эритроцитах (44,9%), уровень глутатионредуктазы был снижен на 35,7% и 50,0% ( $p < 0,05$ ) в плазме и в эритроцитах соответственно. Нарастание продуктов перекисного окисления липидов и несоответствие в активности антиоксидантных ферментов указывает на развитие хронического напряжения антиоксидантной защиты и ослабление адаптационного потенциала у детей со смешанной формой хронического гломерулонефрита. В целом прогрессирование смешанной формы хронического гломерулонефрита связано со сдвигами в состоянии прооксидантно-антиоксидантного равновесия.

**Ключевые слова:** хронический гломерулонефрит, смешанная форма, дети, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, прооксидантно-антиоксидантное равновесие.

**Введение.** Гломерулонефрит, характеризующийся тяжелым течением с нарушением почечной функции и ранней инвалидизацией детей, занимает одно из ведущих мест в структуре нефрологических заболеваний у детей. В настоящее время у детей чаще встречается хронический гломерулонефрит (ХГН) [6, 9]. Отмечается, что у 10% больных ХГН развивается после перенесенного острого гломерулонефрита, у 90% больных это заболевание имеет изначально хроническое, вялотекущее течение [9, 14]. Установлено, что развитию ХГН способствует нарушение взаимодействия клеток самого клубочка с пришедшими в клубочек клетками. При этом активированные моноциты и макрофаги выделяют вещества, повреждающие ткань, в частности метаболиты кислорода [10, 12]. В экспериментальных исследованиях показана роль окислительного стресса в патогенезе хронической болезни почек, включая и пролиферативный гломерулонефрит [15]. Результаты современных исследований также свидетельствуют о важной роли процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы (АОС) в повреждении структур почек [4, 9, 11]. Известно, что накопление токсических продуктов ПОЛ приводит к свободнорадикальному окислению, процессы которого составляют основу клеточного

метаболизма и определяют адаптацию организма к действию повреждающих факторов. Это является необходимым звеном жизнедеятельности клетки, а также универсальным неспецифическим механизмом развития многих заболеваний, в том числе и ХГН [6, 10].

В настоящее время наблюдается возросший интерес к исследованиям ПОЛ и антиоксидантной защиты как механизмам, принимающим участие в патогенезе ХГН. Однако в доступной литературе недостаточно сведений об этих механизмах при ХГН у детей, а зачастую они противоречивы. В связи с этим представляет интерес изучение показателей ПОЛ и АОС у детей с ХГН в зависимости от формы и степени активности заболевания.

**Цель исследования.** Изучение состояния ПОЛ и АОС у детей со смешанной формой хронического гломерулонефрита.

**Материалы и методы.** Обследовано 118 детей. Основную группу составили 88 детей со смешанной формой ХГН, контрольную группу – 30 детей без ХГН. Из больных детей с ХГН мальчиков было 61 (69,3%), девочек – 27 (30,7%). Возраст детей колебался от 11 до 15 лет, средний возраст –  $13,84 \pm 1,75$  лет. В возраст-

те 11 лет обследовано 13 детей (14,8%), в возрасте 12–15 лет – 75 (85,2%) детей. В контрольной группе мальчиков было 19 (63,3%), девочек – 11 (36,7%), средний возраст – 10,7±5,11 лет.

Использовались клинические, лабораторные и инструментальные методы исследования (ультразвуковое исследование – УЗИ). Интенсивность ПОЛ оценивалась по уровню первичных – диеновых конъюгатов (ДК) и вторичных продуктов – малонового диальдегида (МДА). Определение ДК проводили в гексановых экстрактах сыворотки крови с помощью спектрофотометрии [8]; МДА – в пробе с тиобарбитуровой кислотой [1]. Состояние АОС определяли по активности каталазы, по уровню восстановленного глутатиона (GSH), глутатионпероксидазы (ГПО), глутатионредуктазы (ГР). Активность каталазы определяли по образованию перекиси водорода с молибдатом аммония [8]; GSH – по изменению оптической плотности по методике G.L. Ellman [13]; ГПО – по А.Р. Гавриловой [5]; ГР – по В.С. Асатиани [2]. Показатели ПОЛ и АОС определяли в плазме крови и эритроцитах.

Статистическую обработку результатов осуществляли путем использования стандартных пакетов программы Statistica version 6,0 (США).

**Результаты и их обсуждение.** У детей, страдающих ХГН в анамнезе встречались перинатальная и антенатальная заболеваемость. У 13 матерей (14,8%) больных детей беременность протекала с осложнениями, у 37 (42,0%) пациентов матери в течение беременности перенесли острую респираторную инфекцию, грипп; в 22,7% (20) случаев – анемию, в 17% (15) случаев – пиелонефрит. 10 (11,4%) детей родились в асфиксии, 11 (12,5%) – раньше срока. У 26 (29,5%) детей отмечался хронический тонзиллит с частыми обострениями, у 23 (26,1%) – кариес, у 14 (15,9%) – вазомоторный ринит и секреторный отит. В 70,4% (62) случаев встречались вульгарные угри. У всех детей отмечались отеки разной выраженности: у 52 (59,1%) – пастозность лица, у 36 (40,9%) детей – отеки верхних и нижних конечностей. 18 (20,4%) детей указывали на головные боли, носящие периодический характер при нормальном артериальном давлении (АД). У остальных 70 (79,6%) детей уровень систолического (САД) и диастолического (ДАД) в среднем составил

соответственно 148,60±13,14 мм рт. ст. (в контрольной группе – 111,66±8,52 мм рт. ст.) и 96,10±5,72 мм рт. ст. (в контрольной группе – 77,20±4,18 мм рт. ст.), что достоверно выше контрольных показателей на 33,1 (p<0,05) и 24,5% (p<0,05) соответственно. 77,3% пациентов связывали начало заболевания с появлением протеинурии в моче в сочетании с микрогематурией на фоне острой респираторной вирусной инфекции или после гриппа. В 22,7% (20) случаев пациенты отмечали макрогематурию и протеинурию после вирусного гриппа.

По данным УЗИ у 56,8% пациентов отмечается неровный контур почек, у 52,3% – гиперэхогенность, а у 55,7% детей – истончение паренхимы.

У детей со смешанной формой ХГН выявлено достоверное увеличение ДК в эритроцитах на 88,3% (p<0,01), а также МДА в плазме крови и эритроцитах соответственно на 67,5% (p<0,05) и на 83,4% (p<0,01), таблица 1. При этом максимальные величины ДК в плазме и эритроцитах отмечались у детей с высоким уровнем САД (152 мм рт. ст.) и ДАД (98 мм рт. ст.) – 0,97 мкмоль/мл и 1,37 мкмоль/мл.

На момент измерения продуктов ПОЛ у 29 (33,0%) пациентов отмечалась стадия ремиссии, характеризующаяся незначительной протеинурией и гематурией, стабильное АД – 132/90 мм рт. ст. Остальные 59 (67,0%) пациентов находились в стадии обострения болезни: протеинурия составила 2,2±0,62 г/сут, выявлена значительная микрогематурия, АД – 144/97 мм рт. ст. У пациентов с обострением ХГН процесс накопления продуктов ПОЛ носил более интенсивный характер (табл. 2).

Содержание ДК в плазме и эритроцитах у пациентов с обострением болезни по сравнению со стадией ремиссии было выше соответственно на 8 и 11,9%. При сравнении с контрольными величинами концентрация ДК в плазме крови у детей в стадии ремиссии была выше на 8,7%, при обострении – на 17,5%, в эритроцитах соответственно – на 73,5 и 94,1% (p<0,01). Накопление вторичного продукта ПОЛ – МДА также интенсивно происходило при обострении ХГН. При этом различия уровня МДА в плазме и в эритроцитах у детей в стадии обострения и ремиссии были незначительными, но значительно

Таблица 2

**Уровень ДК и МДА в крови у пациентов с различной стадией заболевания ХГН**

Показатель	Основная группа		Контрольная группа	
	ремиссия, n=29	обострение, n=59		
ДК, мкмоль/мл	плазма	0,87±0,34	0,94±0,62	0,80±0,11
	эритроциты	1,18±0,18*	1,32±0,36*	0,68±0,06
МДА, мкмоль/л	плазма	2,55±0,18*	2,70±0,44*	1,60±0,34
	эритроциты	2,61±0,10*	2,82±0,38*	1,51±0,08

**Примечание:** \* – различия между стадиями заболевания и контрольной группой, p<0,05.

Таблица 1

**Уровень ДК и МДА в крови у обследованных детей**

Показатель		Дети, страдающие ХГН	Контрольная группа
ДК, мкмоль/мл	плазма	0,92±0,58	0,80±0,11
	эритроциты	1,28±0,44*	0,68±0,06
МДА, мкмоль/л	плазма	2,68±0,62*	1,60±0,34
	эритроциты	2,77±0,40*	1,51±0,08

**Примечание:** \* – различия между группами, p<0,05.

выше контрольных. Концентрация МДА в плазме крови детей в стадии ремиссии и при обострении превышала контрольную величину на 59,4 и 68,7% ( $p < 0,05$ ), в эритроцитах – на 72,8 и 86,7% ( $p < 0,01$ ) соответственно.

Следовательно, обострение патологического процесса увеличивало накопление первичных и вторичных продуктов ПОЛ, которое уже происходило у пациентов, страдающих ХГН смешанной формы в стадии ремиссии, т. е. нарушение прооксидантного равновесия способствовало прогрессированию заболевания.

Анализ показателей АОС у детей со смешанной формой ХГН показал значительные изменения в плазме и в эритроцитах (табл. 3).

Как видно из таблицы 3, у пациентов все показатели АОС были ниже контрольных. Концентрация каталазы в плазме и эритроцитах в среднем была ниже контрольной на 19,4 и 26,2% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Существенное снижение выявлялось в содержании GSH в плазме – на 17,1%, в эритроцитах – на 41,9% ( $p < 0,05$ ). Достоверно низкий уровень ГПО определялся как в плазме крови (20,6%),

так и в эритроцитах (44,9%). Другой фермент глутатионовой системы – ГР – также был снижен на 35,7 и на 50,0% ( $p < 0,05$ ) в плазме и в эритроцитах соответственно. В целом, активность АОС у детей, страдающих ХГН, в сравнении с контрольной была низкой.

Анализ компонентов АОС у детей в периоде обострения и ремиссии и сравнение их между собой и контрольными величинами свидетельствовал и о дисбалансе в ферментативном звене (табл. 4).

Наименьшая активность каталазы выявлялась в группе детей с обострением. Между группами детей в стадии ремиссии и обострения различие плазменной активности фермента было незначительным, но в сравнении с контрольной группой у детей в стадии ремиссии активность снижалась на 17,9%, в стадии обострения – на 19,5%. Уровень каталазы в эритроцитах у больных детей в стадии обострения на 11,9%, чем в стадии ремиссии и ниже контрольных значений – на 23,1% ( $p < 0,05$ ). Разница концентрации каталазы в эритроцитах у детей в стадии ремиссии относительно контрольной группы составила 12,7%. Содержание восстановленного глутатиона в плазме и эритроцитах у пациентов в стадии ремиссии и обострения не различалось, но в сравнении с контрольной группой было ниже на 13,8 и 41,9% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Уровень глутатионпероксидазы в плазме крови при обострении и ремиссии практически не отличался, а в эритроцитах (у пациентов в стадии обострения) был незначительно снижен. Сравнение с контрольным уровнем в плазме крови показало снижение активности фермента в среднем на 20,1% ( $p < 0,05$ ), в эритроцитах – на 43,6% ( $p < 0,05$ ). Концентрация глутатионредуктазы в плазме крови и в эритроцитах при различных стадиях не отличалась, но в сравнении с контрольной группой наблюдалось достоверное снижение на 38,1 и 46,2% ( $p < 0,01$ ) соответственно. Следовательно, наибольшие изменения отмечались в эритроцитах.

Таблица 3

**Показатели АОС у детей со смешанной формой ХГН**

Показатель		Группа	
		основная	контрольная
Каталаза, ед/мл	плазма	44,8±1,07	55,6±1,90
	эритроциты	1508,6±17,25*	2043,1±12,5
GSH, нмоль/мл мкмоль/мл	плазма	15,0±1,08	18,1±1,84
	эритроциты	0,90±0,18*	1,55±0,10
ГПО, нмоль/ мин на 1 мг белка	плазма	1,54±0,04*	1,94±0,04
	эритроциты	4,12±0,65*	7,48±0,47
ГР, нмоль/мин на 1 мг белка	плазма	0,27±0,03*	0,42±0,03
	эритроциты	1,06±0,14	2,12±0,14

Примечание: \* – различия между группами,  $p < 0,05$ .

Таблица 4

**Активность АОС у детей со смешанной формой ХГН в стадии ремиссии и обострения**

Показатель		Основная группа		Контрольная группа
		ремиссия, n=29	обострение, n=59	
Каталаза, ед/мл	плазма	45,65±0,88	44,74±1,48	55,6±1,90
	эритроциты	1784,2±10,18	1572,3±21,16*	2043,1±12,5
GSH, нмоль/мл мкмоль/мл	плазма	15,60±1,14	15,18±1,26	18,1±1,84
	эритроциты	0,90±0,14*	0,90±0,22*	1,55±0,10
ГПО, нмоль/мин на 1 мг белка	плазма	1,55±0,03*	1,54±0,06*	1,94±0,04
	эритроциты	4,22±0,38*	4,03±0,57*	7,48±0,47
ГР, нмоль/мин на 1 мг белка	плазма	0,26±0,04*	0,25±0,07*	0,42±0,03
	эритроциты	1,14±0,22*	1,02±0,36*	2,12±0,14

Примечание: \* – различия между стадиями заболевания и контрольной группой,  $p < 0,05$ .

Таким образом, состояние системы ПОЛ-АОС позволяет установить достоверно высокий уровень ДК в эритроцитах и МДА в плазме и в эритроцитах, что свидетельствует о наличии выраженного окислительного стресса.

Интенсивность процессов ПОЛ и состояния АОС рассмотрена у пациентов, разделенных на две группы: пациенты в стадии ремиссии и пациенты в стадии обострения. В обеих группах отмечена изменчивость интенсивности этих процессов. При этом достоверный рост накопления первичного и вторичного продуктов ПОЛ происходил в обеих стадиях, причем прослеживался более выраженный рост МДА как в стадии ремиссии, так и в фазе обострения.

При окислительном стрессе активность защитных механизмов связана с антиоксидантными ферментами. Защита клеточных мембран от разрушающего действия свободных радикалов осуществляется ферментами антиоксидантной системы. Одним из ферментов антиоксидантной защиты, проявляющим свою активность и в клеточной и во внеклеточной среде, является каталаза [10]. У детей со смешанной формой ХГН отмечалась низкая активность данного фермента, особенно в эритроцитах, т. е. снижается обеспеченность эритроцитов каталазой.

Установлено, что за состоятельность мембран эритроцитов ответственна система глутатиона [3]. Нами установлено, что у всех больных активность ГПО и ГР была ниже по отношению к здоровым детям. Известно, что ГПО защищает организм от оксидативного повреждения, восстанавливает перекись водорода до воды, приводит к ускоренному распаду липидных пероксидаз и перекиси водорода, вынуждает перекисные радикалы вступать в реакцию друг с другом, в результате чего образуются вода и кислород. Глутатионпероксидаза защищает от окислительной атаки белки, липиды, восстанавливает липидные перекиси, принимает участие в поддержании нормального уровня продуктов свободнорадикального окисления [3, 10]. Показано, что у детей со смешанной формой ХГН в плазме и эритроцитах снижается восстановленный глутатион, ГПО и ГР, что, возможно, существенно нарушает функцию мембран эритроцитов и транспорт кислорода. Снижение активности каталазы, ГР и ГПО позволяет предположить сбой в работе адаптационных механизмов. За счет окисления восстановленной формы глутатиона фермент ГПО восстанавливает гидроперекиси до спиртов. Снижение уровня восстановленной формы глутатиона способствует усилению процессов ПОЛ.

Выявленные изменения в процессах ПОЛ и состоянии АОС, по-видимому, можно объяснить истощением АОС организма при хроническом течении гломерулонефрита у детей.

Известно, что одним из основных механизмов развития и прогрессирования ХГН является метаболический. Полученные результаты свидетельствуют о

высокой степени интенсивности свободнорадикального окисления, которое приводит к активации ПОЛ, на что указывает повышение содержания ДК, МДА и недостаточность системы АОС. Это составляет основу развития неконтролируемого свободнорадикального окисления, усиления окислительной деструкции и гипоксии ткани. На основе полученных данных возможно использование исследуемых показателей в комплексном обследовании детей, страдающих ХГН, и оценка степени активности патологического процесса.

**Заключение.** Выявленные нарушения в прооксидантно-антиоксидантной системе у детей со смешанной формой ХГН, видимо, имеют непосредственное отношение к патогенезу ХГН, поэтому их нужно учитывать при комплексном обследовании детей, страдающих ХГН. Нарастание продуктов ПОЛ и несоответствие в активности антиоксидантных ферментов указывает на развитие хронического напряжения антиоксидантной защиты и ослабление адаптационного потенциала у детей со смешанной формой ХГН. Прогрессирование смешанной ХГН связано со сдвигами в состоянии прооксидантно-антиоксидантного равновесия.

#### Литература

1. Андреева, Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кишкун // *Лабор. дело.* – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Асатиани В.С. Ферментные методы анализа / В.С. Асатиани. – М.: Наука, 1969. – 740 с.
3. Бабак, О.Я. Глутатион в норме и при патологии: биологическая роль и возможности клинического применения / О.Я. Бабак // *Здоров'я України.* – 2015. – №1 – С. 1–3.
4. Бобкова, И.Н. Система самозащиты почки: современный взгляд на механизмы, определяющие течение и исход гломерулонефрита (Обзор литературы) / И.Н. Бобкова [и др.] // *Нефрология и диализ.* – 2013. – Том 15, № 3. – С. 174–183.
5. Гаврилова, А.Р. Определение активности глутатионпероксидазы эритроцитов при насыщающих концентрациях субстратов / А.Р. Гаврилова, Н.Ф. Хмара // *Лаб. дело.* – 1986. – № 12. – С. 21–24.
6. Игнатова, М.С. Детская нефрология: руководство для врачей / М.С. Игнатова. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Мед. информ. аг-тво, 2011. – 696 с.
7. Каган, В.Е. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов / В.Е. Каган, В.Н. Орлов, Л.Л. Прилипко. – М.: Наука, 1986. – 136 с.
8. Королюк, М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // *Лаб. дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–17.
9. Лучанинова, В.Н. Актуальные вопросы детской нефрологии / В.Н. Лучанинова. – Владивосток: Медицина ДВ, 2012. – 196 с.
10. Плешкова Е.М. Окислительный стресс и его участие в развитии и течении болезни мочевой системы у детей / Е.М. Плешкова // *Росс. вестн. перинатологии и педиатрии.* – 2014. – № 5. – С. 9–14.
11. Ağayev, M.M. *Nefrologiya / M.M. A ayev.* – Bak : « bilov, Zeynalov və oğulları», 2007. – 352 s.
12. Bulbul, M. Oxidative stress in children with acute glomerulonephritis / M. Bulbul [et al.] // *Renal failure.* – 2008. – Vol. 30, № 2. – P. 209–214.
13. Ellman, G.L. Tissue sulfhydryl groups / G.L. Ellman // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1959. – Vol. 82, № 1. – P. 70–77.

14. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Glomerulonephritis Work Group KDIGO clinical practice guideline for glomerulonephritis // *Kidney Int. Suppl.* – 2012. – Vol. 2. – P. 139–274.
15. Ruggenenti, P. Ramipril prolongs life and is cost effective in chronic proteinuric nephropathies / P. Ruggenenti [et al.] // *Kidney Int.* – 2001. – Vol. 59. – P. 286–294.
- 

P.O. Beglyarov

**Levels of prooxidant-antioxidant balance indicators in children with the mixed form of chronic glomerulonephritis**

***Abstract.** The condition of lipid peroxidation and antioxidant system in 88 children with the mixed form of chronic glomerulonephritis is studied at the age of  $13,84 \pm 1,75$ . The control group consisted of 30 healthy kids. We use clinical, laboratory and instrumental study methods. The rate of lipid peroxidation was assessed by levels of diene conjugates and malondialdehyde. The condition of an antioxidant system was determined by catalase, reduced glutathione, glutathione peroxidase and glutathione reductase. A significant increase in diene conjugates in erythrocytes was detected by 88.3% ( $p < 0.01$ ) and malonic dialdehyde in blood plasma and erythrocytes by 67.5 and 83.4% ( $p < 0.01$ ), respectively. The recrudescence of the pathological process increased the accumulation of primary and secondary products of lipid peroxidation. The concentration of catalase in plasma and erythrocytes on the average was lower than in the control one by 19.4 and 26.2% ( $p < 0.05$ ), respectively; reduced glutathione by 17.1%, in erythrocytes - by 41.9% ( $p < 0.05$ ). A reliably low level of glutathione peroxidase was detected in blood plasma (20.6%) and in erythrocytes (44.9%), the level of glutathione reductase was reduced by 35.7% and 50.0% ( $p < 0.05$ ) in plasma and in erythrocytes respectively. Accumulation of products of lipid peroxidation and a mismatch in the activity of antioxidant enzymes indicates the development of chronic antioxidant stress and the weakening of the adaptive potential in children with a mixed form of chronic glomerulonephritis. In general, the progression of the mixed form of chronic glomerulonephritis is associated with shifts in the state of prooxidant-antioxidant equilibrium.*

**Key words:** chronic glomerulonephritis, mixed form, kids, children, lipid peroxidation, antioxidant system.

Контактный телефон: +994-505-516-832; e-mail: rjafarova@bk.ru