

Клинические аспекты изменения содержания провоспалительных факторов в крови и моче больных персистирующим хроническим калькулезным пиелонефритом

Сами Хаддад, А.В. Борисов

Одесский национальный медицинский университет

Целью исследования было изучение состояния 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 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 мочи, свидетельствующие о наличии в организме больных выраженного состояния оксидативного стресса и нарушения антиоксидантно-прооксидантного баланса.

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

Пиелонефрит является одним из наиболее распространенных заболеваний почек, при котором воспалительный процесс может развиваться как первично, так и вторично. Как правило, хронический пиелонефрит возникает на фоне интеркуррентной патологии. В частности, к развитию заболевания приводят факторы, нарушающие пассаж мочи по верхним мочевым путям. Наиболее существенным из них является камнеобразование в почках. Хронический пиелонефрит сопутствует уролитиазу у значительного числа больных. В то же время у части пациентов с уролитиазом пиелонефрит является патогенетическим фактором камнеобразования [1–3].

Исход пиелонефрита зависит от своевременной диагностики и раннего начала лечения заболевания. Несмотря на существование многочисленных методов диагностики пиелонефрита, до настоящего времени изучаются возможности новых методических приемов, направленных на оценку активности пиелонефрита и стойкости клинико-лабораторной ремиссии [1, 4]. В исследованиях последних лет особый акцент делается на изучение механизмов местного воспалительного процесса с позиции изменения содержания медиаторов воспаления в крови и моче [2, 5].

Следует отметить, что, по данным литературы, экскреция лизосомального фермента N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы с мочой является чувствительным качественным, а также количественным маркером канальцевого повреждения тканей почек (тубулярного повреждения), особенно в ранние сроки [6]. Известно, что при повреждении клеток эпителия происходит высвобождение фермента, что приводит к увеличению концентрации его в первичной моче [3, 7].

Таким образом, уровень активности N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы отражает степень тубулярного повреждения тканей почек, а повышение активности является ранним маркером поражения и снижения фильтрационной функции почки.

Известно, что эффекты эйкозаноидов относятся не только к воспалительной реакции, но затрагивают и многие другие физиологические функции, причем действие разных эйкозаноидов существенно различается [2, 4, 8].

Эйкозаноиды играют важную роль в развитии неспецифической системной воспалительной реакции. Различные патогенные факторы (триггеры воспаления) активируют фермент фосфолипазу A2 и под действием циклооксигеназы и липоксигеназы образуются простагландины по циклооксигеназному пути метаболизма арахидоновой кислоты и лейкотриены по липоксигеназному пути соответственно. При различных патологических состояниях мочевыделительной системы выявлено увеличение содержания простагландина E2 и лейкотриена V4 как в плазме, так и в моче пациентов [4, 8, 9].

Цель исследования: изучить активность провоспалительных факторов и состояние метаболических процессов в почках у больных хроническим калькулезным пиелонефритом в фазе его активного течения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследование было проведено у 41 больного хроническим калькулезным пиелонефритом в фазе активного течения, которые наблюдались на кафедре урологии и нефрологии Одесского национального медицинского университета, на базе КУ «Городская клиническая больница № 10». Среди них было 30 женщин и 11 мужчин в возрасте от 21 до 73 лет (средний возраст составлял $53,8 \pm 1,1$ года). Полученные данные были сопоставлены с данными в контрольной группе, которая состояла из 27 практически здоровых лиц, добровольно согласившихся принять участие в исследовании. Среди них было 9 мужчин и 18 женщин в возрасте от 23 до 68 лет, средний возраст составлял – $51,6 \pm 1,3$ года.

Биохимические показатели определяли общепринятыми методами в крови и моче больных хроническим калькулезным пиелонефритом в фазе активного течения. В крови и моче определяли активность ферментов (НАДФН-оксидазу в крови и N-ацетил-β-D-глюкозаминидазу в моче), содержа-

Показатели активности провоспалительных факторов и метаболических процессов в крови у больных хроническим калькулезным пиелонефритом в фазе активного течения (n=41) в сравнении с контрольной группой (n=27) (P<0,05)

Биохимические показатели	Контрольная группа, n=27	Основная группа, n=41
Глутатион восстановленный, мкмоль/л	745,32±54,60	541,10±38,92
Тиоловые группы белков, мкмоль/л	525,60±32,44	421,53±35,80
Дисульфидные группы белков, мкмоль/л	324,26±28,57	373,87±30,49
Лейкотриен В4, пг/мл	352,43±24,60	465,20±32,54
Простагландин В4, нг/мл	14,30±1,25	19,76±1,43
МДА, мкмоль/л	4,30±0,32	5,86±0,44
НАДФН-оксидаза, нкат/мл	24,50±1,75	29,82±1,85
Глутатион окисленный, мкмоль/л	138,74±11,56	173,84±12,57
Диеновые конъюгаты, мкмоль/л	52,68±4,32	63,47±5,60

Таблица 2

Показатели активности провоспалительных факторов и метаболических процессов в моче у больных хроническим калькулезным пиелонефритом в фазе активного течения (n=41) в сравнении с контрольной группой (n=27) (P<0,05)

Биохимические показатели	Контрольная группа, n=27	Основная группа, n=41
N-ацетил-в-D-глюкозаминидаза	17,20±1,35	23,32±2,18
Тиоловые группы белков, мкмоль/л	412,35±32,68	314,62±25,40
Дисульфидные группы белков, мкмоль/л	380,25±26,90	436,52±38,24
Лейкотриен В4, пг/мл	123,58±10,29	177,35±17,40
Простагландин Н2, нг/мл	5,36±0,52	7,84±0,76

ние тиоловых и дисульфидных групп белков, лейкотриена В4 и простагландина Н2, малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов. Содержание тиоловой и дисульфидной формы глутатиона определяли в депротенизированной и нейтрализованной эстракте крови [6, 8, 9].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования отмечено статистически достоверное (P<0,05) изменение биохимических показателей в крови и моче в группе больных хроническим калькулезным пиелонефритом в сравнении с контрольной группой. Известно, что реакции перекисного окисления липидов (ПОЛ) являются свободнорадикальными и постоянно происходят в организме. Полученные нами данные о содержании тиоловой и дисульфидной формы глутатиона и продуктов перекисного окисления липидов, а именно МДА и диеновых конъюгатов в крови (табл. 1), а также об уровне тиоловых и дисульфидных групп белков в крови и моче (табл. 2) свидетельствуют о наличии в организме больных хроническим калькулезным пиелонефритом выраженного состояния оксидативного стресса и нарушения антиоксидантно-прооксидантного баланса. В результате разрушается структура белков, между ними образуются ковалентные «сшивки», что активизирует протеолитические ферменты в клетке, гидролизующие поврежденные белки. Активные формы кислорода легко нарушают и структуру ДНК. Неспецифическое связывание Fe²⁺ молекулой ДНК облегчает образование гидроксильных радикалов, которые разрушают структуру азотистых оснований. Но наиболее подвержены действию активных форм кислорода жирные кислоты, содержащие двойные связи, расположенные через СН2-группу. Именно от этой СН2-группы свободный радикал (инициатор окисления) легко отнимает электрон, превращая липид, содержащий эту кислоту, в свободный радикал [2, 8, 9].

Приведенные результаты содержания в крови (см. табл. 1) МДА и диеновых конъюгатов (соответственно конечный и промежуточный продукты ПОЛ) свидетельствуют об интен-

сификации ПОЛ (цепных реакций с образованием свободных радикалов, частиц, имеющих неспаренный электрон, которые инициируют дальнейшее распространение перекисного окисления) с накоплением конечного или промежуточного продуктов ПОЛ. В процессе усиления ПОЛ и его продуктов повреждаются белково-липидные компоненты мембран клеток, что может негативно отражаться на функциях тканей и органов.

Проведенное нами исследование активности фермента НАДФН-оксидазы в крови, которая является клеточным мембраносвязанным ферментным комплексом, показало ее активацию (больше чем на 20% в сравнении с контрольной группой, P<0,05), что может способствовать повышенному уровню супероксидного радикала при окислении НАДФН. При хроническом процессе повышенное использование восстановленной формы НАДФН, необходимой для регенерации восстановленного глутатиона, может приводить к истощению ферментных систем, участвующих в ее синтезе.

Кроме того, НАДФН-оксидаза является клеточный мембраносвязанным ферментным комплексом, который локализуется на плазматической мембране и в некоторых органеллах. Оксидазы макрофагов, например, участвуют в клеточной противомикробной защитной системе и других процессах. При реакции, катализируемой НАДФН-оксидазой, НАДФН окисляется в НАДФ⁺ с образованием на наружной стороне клетки супероксидного радикала. Интенсивность генерации активных форм кислорода, в частности нейтрофильными гранулоцитами, определяется в основном активностью НАДФН-оксидазы.

Среди функциональных групп белковых молекул высокой реакционной способностью и разнообразием химических реакций выделяются серусодержащие, особенно сульфгидрильные (тиоловые) группы, необходимые для проявления биологической активности и поддержания макромолекулярной структуры многих белков. В ходе исследования было обнаружено снижение тиоловых групп белков на 20% в крови и на 15% в моче пациентов с хроническим калькулезным пиелонефритом в сравнении с контрольной группой. Тиоловые группы (SH-группы) не образуют в белках каких-либо внутримолекулярных ковалентных связей, помимо дисульфидных и связей,

опосредованных через ион металла. Нами выявлен рост содержания дисульфидных групп белков с $324,26 \pm 28,57$ мкмоль/л в контрольной группе до $373,87 \pm 30,49$ мкмоль/л у пациентов с хроническим калькулезным пиелонефритом в крови и в моче с $380,25 \pm 26,90$ мкмоль/л до $436,52 \pm 38,24$ мкмоль/л соответственно, что также может свидетельствовать об усилении процессов ПОЛ, повреждении белково-липидных компонентов мембран клеток и в результате негативно отражаться на функциях тканей и органов.

Существенное снижение потенциала восстановительной системы глутатиона в крови и тиоловых групп белков в крови и моче является важным звеном механизма нарушений тиол-дисульфидного статуса у больных. Повышение уровня продуктов ПОЛ и свободных радикалов при патологических процессах, в частности у больных с обострением хронического калькулезного пиелонефрита, могут повреждать белково-липидные компоненты мембран клеток, а накопление дисульфидных групп и снижение тиоловых групп вызывает нарушение их соотношения и, как результат, приводит к изменению структурно-функциональных свойств белков, что в целом может негативно отражаться на функциях тканей и органов мочевыделительной системы.

Также нами обнаружено увеличение концентрации лейкотриена В4 (ЛТВ4) и простагландина (ПГ Е2) как в плазме крови, так и в моче пациентов с хроническим калькулезным пиелонефритом. Известно, что ЛТВ4 важнейшее гемостатическое вещество для лейкоцитов и макрофагов, параллельно стимулирующее повышенную проницаемость сосудов и вовлеченное в воспалительный ответ. Миграция нейтрофильных гранулоцитов в ткани является отличительной чертой многочисленных острых воспалительных реакций и представляет весьма регулируемый многоэтапный процесс, который управляется с помощью воспалительных посредников – ЛТ В4 и ПГЕ2 [4].

Экскреция лизосомального фермента N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы с мочой является чувствительным и ранним качественным и количественным маркером канальцевого повреждения почек (тубулярного повреждения). Наиболее высокая активность фермента нами выявлена в моче, куда фермент секретруется эпителием проксимальных канальцев и участвует в деградации мукополисахаридов и гликопротеинов. В норме из-за высокой молекулярной массы (150 000 Д) фермент не проходит через гломерулярный барьер. При поврежде-

нии клеток эпителия происходит высвобождение фермента, что приводит к увеличению его концентрации в первичной моче. Мочевая экскреция фермента является ранним маркером поражения почек и снижения фильтрационной функции.

ВЫВОДЫ

Таким образом, можно считать, что выявленные метаболические изменения и состояние восстановительного потенциала глутатионовой системы, в частности, в организме наблюдаемых пациентов являются важным звеном в патогенезе развития активного воспаления у больных с хроническим калькулезным пиелонефритом. Полученные данные можно рассматривать как клинико-биохимическое обоснование целесообразности коррекции нарушений тиолового статуса и изучения ее эффективности в условиях клиники.

У всех наблюдаемых пациентов в активной фазе хронического калькулезного пиелонефрита существенно повышался уровень исследуемых эйкозаноидов ($P < 0,05$), что свидетельствовало о наличии воспаления в почках, не выявляемого с помощью традиционных методов диагностики. Активация хронического воспалительного процесса способствует повышению концентраций в моче простагландина Е2 на 146,30%, лейкотриена В4 на 143,50% и N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы на 136% в сравнении с контрольной группой и отражало высокую информативность и универсальность данных показателей для хронического калькулезного пиелонефрита.

Установлено, что у больных с хроническим пиелонефритом в стадии обострения 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, что свидетельствует о наличии в организме больных выраженного состояния оксидативного стресса и нарушении антиоксидантно-прооксидантного баланса.

Полученные данные могут стать теоретической основой для разработки детально спланированных исследований, которые позволят понять патофизиологические механизмы, оценить чувствительность и специфичность методов ранней диагностики и разработать принципы эффективной профилактики и терапии постоянно рецидивирующего калькулезного пиелонефрита.

Клінічні аспекти зміни вмісту прозапальних факторів у крові і сечі хворих на персистивний хронічний калькульозний пієлонефрит

Хаддад Самі, О.В.Борисов

Метою дослідження було вивчення стану прооксидантно-антиоксидантного балансу та рівень медіаторів запалення у хворих на хронічний калькульозний пієлонефрит у фазі його активного перебігу. Обстеження проведено у 41 хворого (30 жінок і 11 чоловіків; 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. Виявлені метаболічні зміни та стан відновного потенціалу глутатионові системи, зокрема, в організмі пацієнтів є важливою ланкою в патогенезі розвитку активного запалення у хворих на хронічний калькульозний пієлонефрит. У всіх спостережуваних пацієнтів істотно підвищувався рівень досліджуваних ейкозаноїдів ($P < 0,05$), що свідчило про наявність запалення в нирках, що не виявляється за допомогою традиційних методів діагностики. Установлено, що у хворих в контрольній групі спостерігається підвищення вмісту тиолової і дисульфідної форми глутатиону і продуктів перекисного окиснення ліпідів, а саме малонового диальдегіду та дієнових кон'югатів в крові, а також тиолових і дисульфідних груп білків у крові та сечі, що свідчать про наявність в організмі хворих вираженого стану оксидативного стресу і порушення антиоксидантно-прооксидантного балансу.

Ключові слова: хронічний калькульозний пієлонефрит, прооксидантно-антиоксидантний баланс, медіатори запалення.

Clinical aspects of proinflammatory factors level changes in the blood and urine in patients with persistent chronic calculous pyelonephritis

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.

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

Борисов Александр Валентинович – Кафедра урологии и нефрологии Одесского государственного медицинского университета на базе ГКБ № 10, 65074, г. Одесса, ул. Малиновского, 61. E-mail: doctor@i.ua

Хаддад Сами – Кафедра урологии и нефрологии Одесского государственного медицинского университета на базе ГКБ № 10, 65074, г. Одесса, ул. Малиновского, 61. E-mail: sami_haddad@mail.ru

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бельчусова Л.Н. Цитохимический анализ лейкоцитов крови при хроническом пиелонефрите / Л.Н. Бельчусова, А.А. Санникова, Д.С. Марков, М.М. Газымов // Иммунология Урала. – 2007. – № 1. – С. 114.
2. Вялкова А.А. Современные представления о тубулоинтерстициальных нефропатиях и концепция хронической болезни почек в практической нефрологии / А.А. Вялкова // Педиатрия. – 2008. – № 3. – С. 29–131.
3. Функциональное состояние почек и прогнозирование сердечно-сосудистого риска. В: Национальные клинические рекомендации. Сборник / Под ред. Р.Г. Оганова. -3-е изд. М.: Силиция-Полиграф. – 2010. – С. 558–584.
4. 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; 24:186–193.
5. 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;35:871–881.
6. Ronco C., Bellomo R., McCullough P.A. *Cardiorenal Syndromes in Critical Care*. Contrib Nephrol. – 2010; Basel, Karger, 2010, vol 165.
7. Coresh J., Stevens L., Levey A. Chronic kidney disease is common: What do we do next? *Nephrol Dial Transplant*, 2008; 23(8): 1122–1125.
8. Патогенетическое значение динамики цитокинов при хроническом obstructивном пиелонефрите у детей / Н.А. Пекарева, А.В. Чупрова, С.А. Лоскутова и др. // Педиатрия. – 2008. – Т. 87, № 3. – С. 23–27.
9. Rizvi A. Cytokine Biomarkers, Endothelial Inflammation, and Atherosclerosis in the Metabolic Syndrome: Emerging Concepts / A. Rizvi // *American Journal of the Medical Sciences*, 2009. – Vol. 338, №4. – P. 310–318.

Статья поступила в редакцию 13.07.2015

НОВОСТИ МЕДИЦИНЫ

УЧЕНЫЕ ЗАЯВИЛИ О СОЗДАНИИ СПЕРМАТОЗОИДОВ IN VITRO

В 2012 году ученые из американского Питтсбургского университета (University of Pittsburgh) обнаружили, что можно получить клетку-предшественницу сперматозоида из ткани кожи фертильного мужчины.

Сейчас французские ученые из лионского Института функциональной геномики (Institut de Genomique Fonctionnelle) во главе с Филиппом Дюраном (Phillippe Durand) утверждают, что смогли вырастить зрелые сперматозоиды in vitro: им удалось провести весь процесс сперматогенеза в специальном "биореакторе".

Многие эксперты сомневаются в подлинном успехе проекта - ведь результаты еще не опубликованы

в рецензируемом научном журнале, а перед публикацией специалисты внимательно проверяют работы. Исследователи работали на культурах незрелых половых клеток из яичек шести бесплодных мужчин. До этого метод был опробован на крысах и обезьянах. По заявлениям, "готовые" сперматозоиды выглядят абсолютно так же, как и выработанные естественным путем.

"Мы не можем пока обсуждать детали исследования, поскольку мы подали заявку на публикацию только несколько дней назад. Однако мы получили большое количество зрелых сперматозоидов, которые уже можно использовать в клиниче-

ских целях", - говорит Филипп Дюран.

Институт, в стенах которого была сделана последняя разработка, заявляет, что это прорыв, который мог бы помочь 15000 молодых онкобольных во всем мире, оставшимся бесплодными после химиотерапии, и 120000 взрослых мужчин, чье бесплодие сейчас не может быть обойдено существующими процедурами ЭКО. Как указывают в научном институте, технология будет готова для использования в течение четырех лет. Остается только дождаться подтверждения результатов сторонними специалистами.

<http://medportal.ru>