

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ И ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ

Муравлёва Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Клюев Д.А., Колесникова Е.А., Мурзатаева А.М., Омарова Г.А., Колебаева Г.Т.

*Карагандинский государственный медицинский университет,  
Караганда, Республика Казахстан, e-mail: [muravlev@inbox.ru](mailto:muravlev@inbox.ru), [vilen53@mail.ru](mailto:vilen53@mail.ru),  
[mythrandir79@mail.ru](mailto:mythrandir79@mail.ru)*

Исследовали содержание малонового диальдегида, карбонильных производных, сорбционную емкость и физико-химические показатели эритроцитов крови больных хроническим пиелонефритом и гломерулонефритом. В эритроцитах крови больных хроническим пиелонефритом обнаружено увеличение содержания малонового диальдегида, карбонильных производных и сорбционной емкости по сравнению с контролем. Эти нарушения сопровождались изменениями физико-химических показателей эритроцитов. В эритроцитах больных гломерулонефритом выявлено резкое увеличение малонового диальдегида и сорбционной емкости. Но в тоже время не наблюдались значимые изменения физико-химических показателей эритроцитов.

**Ключевые слова:** малоновый диальдегид, карбонильные производные, сорбционная емкость, физико-химические показатели, эритроциты, хронический пиелонефрит, хронический гломерулонефрит.

## THE COMPARATIVE RESEARCH OF FUNCTIONAL PARAMETERS OF BLOOD ERYTHROCYTES AT PATIENS WITH CHRONIC PYELONEFRITIS AND GLOMERULONEPHRITIS

Muravluova L.E., Molotov-Lushansyi V.B., Kolesnikova E.A., Kluev D.A., Murzataeva A.M., Omarova G.A., Kolebaeva G.T.

*Karaganda State Medical University, The Republic of Kazakhstan, e-mail: [muravlev@inbox.ru](mailto:muravlev@inbox.ru),  
[vilen53@mail.ru](mailto:vilen53@mail.ru), [mythrandir79@mail.ru](mailto:mythrandir79@mail.ru))*

This paper designed to study the content of malonyl dialdehyde, carbonyl derivatives, sorbtional capacity, physical and chemical parameters of blood erythrocytes at patients with chronic pyelonephritis and glomerulonephritis. It was observed that concentration of malonyl dialdehyde, carbonyl derivatives and sorbtional capacity increased in erythrocytes of patients with chronic pyelonephritis as compared to controls. These alterations were accompanied by changes of physical and chemical parameters of erythrocytes. In erythrocytes of patients with glomerulonephritis significant increase of concentration of malonyl dialdehyde concentration and sorbtional capacity was found. There was no evidence of changes of erythrocyte physical and chemical parameters.

**Key words:** malonyl dialdehyde, carbonyl derivatives, sorbtional capacity, physical and chemical parameters, erythrocytes, chronic pyelonephritis, glomerulonephritis.

**Введение.** Хроническая болезнь почек (ХБП), исходом которой является терминальная хроническая почечная недостаточность, представляет собой группу манифестных клинических симптомов. Совокупность причин, приведших к развитию ХБП, заслуживает особого внимания, поскольку они действуют на доклиническом этапе, в предшествующем необратимым изменениям структуры и функции почек периоде. Актуальным является не только выяснение данных причин, но идентификация основных

чувствительных звеньев системы восприятия их воздействия и реагирования на них. Ряд исследователей обращает внимание на эритроциты крови как универсальные рецепторы и адапторы внешних и внутренних воздействий. Их цитомембраны испытывают влияние множества факторов, притом, что эритроцит является иммунно-непрезентируемой, то есть нейтральной клеткой внутренней среды. Отсюда интерес к ней как к своеобразному зеркалу молекулярно-биохимических взаимодействий и физических процессов в организме человека.

Состояние мембран определяет такие важные свойства эритроцитов как стабильность, деформабильность и способность к обратимой агрегации, которые обеспечивают нормальное функционирование красных клеток в крупных сосудах и капиллярном русле.

При хронической болезни почек выявлено снижение деформабильности эритроцитов. Процедура гемодиализа способствовала дальнейшему снижению деформабильности эритроцитов крови больных с хронической почечной недостаточностью [7;8;9]. Одним из факторов, определяющих нарушение структуры мембран эритроцитов крови больных с хронической болезнью почек, получающих гемодиализ, является интенсификация перекисного окисления липидов [7]. В качестве другой причины рассматривают повреждение и декомпозицию белков мембраны эритроцитов [1;9].

Вместе с тем, анализ данных литературы показал, что недостаточно изучен вопрос о состоянии окислительной модификации белков эритроцитов у больных с хронической болезнью почек. Это диктует необходимость изучения окислительного статуса и физико-химических свойств эритроцитов при хронической патологии почек при отсутствии необратимых нарушений их функции и анатомической структуры.

**Цель исследования:** сравнительное изучение физико-химических показателей и некоторых параметров окислительного метаболизма в эритроцитах крови больных с хроническим пиелонефритом и гломерулонефритом.

**Материал и методы исследования.** Сформированы 3 группы больных. В первую группу вошли 25 пациентов, страдающих хроническим пиелонефритом. Хронический пиелонефрит у всех больных данной группы характеризовался латентным течением, то есть обострения процесса протекали с минимальными клиническими проявлениями и/или не фиксировались чаще одного раза в два-три года. Критериями обострения процесса были дизурические явления, в основном в виде поллакиурии и никтурии и/или мочевого синдром с преобладанием лейкоцитурии и малой протеинурии (до 1 г/л в разовой порции утренней мочи и менее 1 грамма за сутки). Для подтверждения инфекционно-

воспалительной природы патологии почек проводилось бактериологическое исследование мочи, результат которого читался как положительный при обнаружении не менее  $10^6$  микробных тел. У 79 % больных ХПл высевались условно патогенная *E.coli* и *Enterococci*, у 30 % больных микробный пейзаж был представлен *St. aureus*, *Klebsiella* и ассоциациями микроорганизмов. В период нашего исследования у пациентов основной группы диагностировалась активность процесса минимальной или средней степени (критериями активности были выраженность мочевого синдрома, интенсивность дизурических явлений). Исследования эритроцитов крови проводились на этапах либо поступления в стационар, либо начала наблюдения у нефролога при минимуме лекарственного воздействия. Антибактериальная терапия начиналась спустя сутки после нашего осмотра и забора крови и мочи на специальные и стандартные виды исследований.

Во вторую группу были включены больные хроническим гломерулонефритом латентной и нефротической формы ( $n=20$ ). Диагноз гломерулонефрита латентной формы основывался на наличии у пациентов мочевого синдрома, характеризующегося протеинурией (от 1,2 г/л в утренних порциях мочи и суточной потерей белка с мочой в пределах от 1 до 2 граммов), гематурией. У части пациентов (20 %) ХГН сопровождался артериальной гипертензией в пределах 140-155/80-95 мм рт.ст. Нефротическая форма ХГН характеризовалась высокой суточной протеинурией (свыше 3,5 граммов), гипопроteinемией и гиперхолестеринемией. У одного больного отеки получили тотальное распространение по телу в виде анасарки. Вместе с тем на момент нашего обследования пациенты с данной клинической формой гломерулонефрита находились в состоянии начинающейся ремиссии: регрессировала суточная протеинурия до 2–1,5 граммов, значительно уменьшились отеки. У пациента, поступившего в стационар с анасаркой, отеки сохранялись на лице в утренние часы.

Клубочковая фильтрация к моменту начала наших исследований у пациентов составляла в среднем  $89 \pm 4,7$  мл/мин (рассчитано по формуле Кокрофта – Голта), уровень креатинина в плазме крови находился в пределах  $0,079 \pm 0,08$  ммоль/л, относительная плотность мочи у больных ХПЛ колебалась от 1,017 до 1,012, у больных ХГН – в пределах 1,018–1,024.

Контрольную группу составили здоровые лица ( $n=31$ ) в возрасте от 19 до 44 лет.

Возраст всех обследованных больных составлял от 21 до 58 лет. Мужчин среди них было 19, женщин – 26.

Кровь отбирали венопункцией в утренние часы и стабилизировали гепарином. Эритроциты отделяли от плазмы, трижды промывали охлажденным физиологическим раствором. Сорбционную емкость эритроцитов (ССЭ) оценивали по методу А.А.

Тогайбаева в модификации Т.В. Копытовой [3]. Физико-химические свойства (включая относительный показатель преломления, концентрацию сухого вещества, содержание воды и проницаемость мембран эритроцитов) определяли по методу О.И. Кулапиной и соавт. [4]. Содержание малонового диальдегида оценивали по методу Гончаренко и Латыповой [2]. При расчете использовали коэффициент молярной экстинкции, равный  $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ , единицы измерения – мкмоль/мл. Содержание карбонильных производных белков в эритроцитах определяли по методу Levine R.L. et al. [10] с использованием динитрифенилгидразина. Содержание карбонильных производных регистрировали при 370 нм, при расчете использовали коэффициент молярной экстинкции  $22,000 \cdot 10^4 \text{ см}^{-1}$ . Результаты обрабатывали статистическими методами. Достоверность различий оценивали по критерию Колмогорова – Смирнова.

**Результаты исследования и их обсуждение.** В таблице 1 представлены результаты исследования физико-химических свойств крови и показателей окислительного метаболизма эритроцитов крови больных хроническим пиелонефритом и гломерулонефритом.

Как следует из таблицы 1, у больных ХПЛ наблюдалось выраженное нарушение физико-химических свойств эритроцитов. Это документировалось достоверным снижением относительного показателя преломления эритроцитов, концентрации сухого вещества в эритроците при достоверном увеличении содержания воды в эритроците и проницаемости мембран эритроцитов. У больных хроническим гломерулонефритом физико-химические свойства эритроцитов не отличались от таковых контроля.

У больных ХПЛ показатель сорбционной емкости эритроцитов превысил таковую контроля на 22 %. У больных хроническим гломерулонефритом этот показатель был выше контроля на 32 %. Обращает на себя внимание достаточно сильная вариабельность этого показателя у больных обеих групп. Увеличение ССЭ крови больных обусловлено сорбцией эндотоксинов различной природы, что рассматривается как один из механизмов естественной детоксикации организма. С другой стороны, увеличение сорбционных свойств мембраны эритроцитов, в свою очередь, влияет на деформабельность красных клеток, а также на их агрегацию [5].

В эритроцитах крови больных достоверно возрастает содержание МДА по сравнению с таковым контроля. Так, в эритроцитах крови больных хроническим пиелонефритом этот показатель был выше контроля на 61 %. В эритроцитах крови больных хроническим гломерулонефритом уровень МДА превышал как значение контроля (в 3.9 раза), так и таковой больных ХПЛ.

В тоже время в эритроцитах крови больных ХПЛ зафиксировано достоверное увеличение карбониловых производных белков – на 40 % по сравнению с контролем, тогда как у больных хроническим гломерулонефритом этот показатель не отличался от контроля.

Таблица 1. Сорбционная емкость и показатели окислительного метаболизма в эритроцитах крови больных хроническим пиелонефритом и хроническим гломерулонефритом ( $X \pm m$ )

Показатели, единицы измерения	Контроль (n = 31)	ХПЛ (n = 25)	ХГН (n = 20)
Относительный показатель преломления эритроцитов	1,07424 ±0,0018	1,0669 ± 0,0040*	1,07159 ± 0,0059
Концентрация сухого вещества в эритроците, %	44,91 ± 1,11	40,50 ± 2,42*	43,31 ± 3,58
Содержание воды в эритроците, %	66,31 ± 0,83	69,63 ± 1,81*	67,52 ± 2,68
Показатель проницаемости мембран эритроцитов	1,52 ± 0,05	1,88 ± 0,18*	1,70 ± 0,16
ССЭ, %	36,2±1,4	44.1 ± 15	47.6 ± 21
МДА, мкмоль/мл	6,40±0,10	10.3 ± 1.766*	24.8 ± 5.0*#
ОМБ 370, усл. ед.	8,9±0,57	12,44±4,18*	9,35±3,3
* достоверность отличий по сравнению с контролем; # достоверность отличий между группами больных			

Следовательно, в эритроцитах крови больных ХПЛ аккумулируются продукты ПОЛ и окислительной модификации белков, у больных хроническим гломерулонефритом – только катаболиты ПОЛ.

**Обсуждение.** В эритроцитах крови больных хроническим гломерулонефритом наблюдалось выраженное накопление МДА, но при этом не зафиксировано изменений физико-химических параметров эритроцитов. Последнее может быть обусловлено рядом

причин. Одной из них может быть повышенный выход более ригидных молодых форм клеток. Ранее С.Г. Резван и соавт. при исследовании эритроцитарной популяции крови детей с гломерулонефритом было обнаружено увеличение числа клеток, устойчивых к кислотному гемолизу [6]. Другой причиной может быть структурные изменения в липидном бислое самих мембран эритроцитов [1;7], причем в пользу последнего свидетельствует и выраженная аккумуляция МДА в эритроцитах.

В эритроцитах крови больных хроническим пиелонефритом наряду с активацией перекисного окисления липидов развивается карбониловый стресс. У больных этой же группы зафиксированы достоверные изменения физико-химических свойств эритроцитов. На наш взгляд, развитие карбонилового стресса является триггерным механизмом, приводящим к нарушению физико-химических показателей, главным образом, увеличению воды в эритроците и нарушению проницаемости мембран. С одной стороны, окислительная модификация может затрагивать интегральные белки и аквапорины, но с другой, может иметь отношение к белкам цитоскелета. Известно, что цитоскелет принимает участие в регуляции формы клетки, поэтому увеличение содержания воды в эритроците и проницаемости мембран можно расценить как несостоятельность работы цитоскелета, что в конечном итоге влияет на способность эритроцитов к деформации.

Интегральные белки мембран эритроцитов и связанные с ними сиаловые кислоты рассматриваются как потенциальные точки для адсорбции белков плазмы крови, участвующих в обратимой агрегации эритроцитов [5]. Окислительная деструкция интегральных белков может приводить к нарушению нормального процесса агрегации эритроцитов.

**Заключение.** Таким образом, мы выявили различную устойчивость мембран эритроцитов к свободнорадикальным атакам белков и липидов при хроническом пиелонефрите и хроническом гломерулонефрите, а также различную степень реальной и потенциальной пластичности красных клеток в зависимости от характера почечной патологии. Отличия такого рода подчеркивают принципиальные отличия адаптивных возможностей организма при развитии инициальных микробно-воспалительных и иммунновоспалительных процессов. Эти достоверно отличающиеся ответы эритроцитов могут свидетельствовать в пользу различной скорости утраты функций почек и темпов приближения больных ХПЛ и ХГН к состоянию, именуемому хронической болезнью почек. Очевидно, в наших исследованиях мы обнаружили период гетерогенности и нестабильности модификаций физико-химических свойств эритроцитов при различной почечной патологии, который может быть как наиболее благоприятным для дифференцированной антиоксидантной и мембраностабилизирующей коррекции, так и

опасным с точки зрения возможного резкого пероксидного взлома цитомембран на фоне кумуляции токсических метаболитов свободнорадикального окисления. Поиск механизмов, блокирующих данные процессы, необходим для предотвращения почечной смерти у больных данных групп.

### **Список литературы**

1. Глушков В.С., Сторожок С.А., Петровец А.М. Модификация структуры мембран клеток крови как модулятор изменения проницаемости мембран для АДФ при их сдвиговой деформации // Известия Челябинского научного центра. – 2004. – Вып. 1 (22). – С. 225-230.
2. Гончаренко М.С., Латипова А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов // Лабораторное дело. – 1985. – № 1. – С. 60-61.
3. Копытова Т.В. Исследование сорбционной емкости мембран эритроцитов для оценки характера эндогенной интоксикации при дерматозах // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – №1. – С 18-19.
4. Проницаемость мембран эритроцитов у больных с инфекционной патологией /О.И. Кулапина, В.Ф. Киричук, И.А. Утц и др. //Серия. Критические технологии. Мембраны. – 2005. – Т 1 (25). – С. 3-11.
5. Смирнов И. Ю. Адсорбция высокомолекулярных белков плазмы на эритроцитах и её влияние на микрогемодиализацию: автореф. докт. биол. наук. – М., 2009. – 44 с.
6. Структурные свойства эритроцитов и функциональная активность системы комплемента крови больных с разными формами нефропатии /С. Г. Резван, В.В. Гусинская, В.Г. Артюхов и др. //Вестник ВГУ. Серия химия и биология. – 2000. – С. 130-133.
7. Толстоухова Н.В. Клинико-патогенетические аспекты нарушения реологических параметров эритроцитов у больных с хронической почечной недостаточностью: автореф. дис. канд. мед. наук. – Тюмень, 2008. – 22 с.
8. Brown CD, Ghali HS, Zhao Z, Thomas LL, Friedman EA Association of reduced red blood cell deformability and diabetic nephropathy // Kidney Int. 2005. – 67(1). – P.295-300.
9. Brzeszczynska J, Luciak M., Gwozdziński K. Alterations of erythrocyte structure and cellular susceptibility in patients with chronic renal failure: Effect of haemodialysis and oxidative stress // Free Radical Research – 2008. – Vol.42. – N 1. – P. 40-48.
10. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins / R.L. Levine, D. Garland., C.N. Oliver et al. // Method Enzymol. 1990. – 186. – P. 464-478.

**Рецензенты:**

Койчубеков Б.К., д.б.н, зав. кафедрой медицинской биофизики и информатики Карагандинского государственного медицинского университета, г. Караганда.

Омарова И.М., д.м.н., заведующая отделением химиотерапии Карагандинского областного онкологического диспансера, г. Караганда.

**Работа получена 25.07.2011.**