

© О.Ф.Сибирева, Е.Ю.Хитринская, Е.В.Калюжина, Л.И.Зибницкая, Л.М.Ткалич, Е.О.Бухарова, В.В.Калюжин, 2009
УДК 613.816-06:616.61]:612.015.32

*О.Ф. Сибирева¹, Е.Ю. Хитринская¹, Е.В. Калюжина¹, Л.И. Зибницкая¹,
Л.М. Ткалич¹, Е.О. Бухарова¹, В.В. Калюжин¹*

СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОГО ПОТЕНЦИАЛА КРОВИ И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ У БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛИЗМОМ, АССОЦИИРОВАННЫМ С ПОРАЖЕНИЕМ ПОЧЕК

*O.Ph. Sibireva, E.Yu. Hitrinskaya, E.V. Kalujina, L.I. Zibnitskaya,
L.M. Tklich, E.O. Buharova, V.V. Kalujin*

THE STATE OF ANTIOXIDANT BLOOD POTENTIAL AND FREE RADICAL LIPID OXIDATION IN ALCOHOLIC PATIENTS, WITH RENAL DAMAGE

¹ Кафедра госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины Сибирского государственного медицинского университета, г. Томск, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Изучение активности свободнорадикальных процессов у больных алкоголизмом (А), ассоциированным с поражением почек (А с ПП), и роли депрессии эффективности регуляторных механизмов, ограничивающих накопление высокотоксичных продуктов свободнорадикального окисления липидов (СрОЛ), в формировании у этих пациентов нефропатии. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Обследовано 57 больных мужского пола (средний возраст $31 \pm 2,8$ года), страдающих А в течение 5 - 10 лет и поступивших в стационар в состоянии неосложненной алкогольной абстиненции. Поражение почек выявили у 17 (29,8%) больных. В контрольную группу вошло 20 здоровых лиц. Изучали активность СрОЛ и антиоксидантной защиты (АОЗ). **РЕЗУЛЬТАТЫ.** У больных А значения изучаемых показателей, отражающих активность СрОЛ, статистически значимо превышали таковые, зарегистрированные в группе здоровых лиц. У этих пациентов обнаружено также угнетение механизмов первой и второй линии АОЗ. Указанные сдвиги были более выражены в группе больных А с ПП. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Активация СрОЛ, развивающаяся на фоне угнетения АОЗ, по-видимому, способствует развитию у больных А нефропатии.

Ключевые слова: алкоголизм, алкогольная нефропатия, свободнорадикальные процессы.

ABSTRACT

THE AIM. To investigate the activity of free radical processes in alcoholic patients (A), associated with renal damage (A with RD), and the role of depression of effectiveness of regulatory mechanisms, restricting the accumulation of high toxicity products of free radical lipid oxidation (FrLO), in the formation of the nephropathy in these patients. **PATIENTS AND METHODS.** Were evaluated 57 male patients (mean age of $31 \pm 2,8$ years), suffering from A during 5-10 years and admitted to the hospital in the state of urgent alcohol abstinence. The renal damage was discovered in 17 (29,8 %) patients. The control group included 20 healthy patients. The activity of FrLO and antioxidant defense was studied. **RESULTS.** In patients A the values of studied features, showing the activity of FrLO, were statistically higher than those in the healthy group patients. In these patients was discovered the depression of the first and second line mechanisms of AOD. Showed deviation was more obvious in the group of patients A with RD. **CONCLUSION.** The activation of FrLO developing on the phone of AOD depression, probably, played a role in the development of nephropathy in A patients.

Key words: alcoholism, alcoholic nephropathy, free radical processes.

ВВЕДЕНИЕ

Поражения почек (гломерулонефрит, гепаторенальный синдром, острый канальцевый некроз, некротический папиллит и др.) при алкоголизме (А) не занимают ведущее место в структуре висцеральных проявлений «алкогольной болезни», но при тяжелых формах последней часто определяют ее прогноз. Однако вопросы эпидемиологии, патофизиологии и лечения алкогольных нефропатий отно-

сятся к числу наименее разработанных аспектов клинической нефрологии [1-3].

При изучении патогенеза поражения почек при А максимальную сложность для понимания представляют механизмы, не связанные с прямым нефротоксическим действием алкоголя и его метаболитов – гемодинамические, иммунные, метаболические. Есть основание полагать, что риск развития, характер, тяжесть и исход алкогольной нефропатии во многом зависят от интенсивности свободнорадикальных процессов, которая опреде-

Калюжин В.В. 634040, г. Томск, ул. Иркутский тр., 214; телефон - (3822) 64-66-83. E-mail: kalyuzhinvv@mail.ru

ляется соотношением факторов активирующих («прооксиданты») и подавляющих («антиоксиданты») окисление липидов [4-5].

Целью настоящего исследования явилось изучение активности свободнорадикальных процессов у больных А, ассоциированным с поражением почек (А с ПП), и роли депрессии эффективности регуляторных механизмов, ограничивающих накопление высокотоксичных продуктов свободнорадикального окисления липидов (СрОЛ), в формировании у этих пациентов нефропатии.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 57 больных мужского пола (средний возраст $31 \pm 2,8$ года), страдающих А в течение 5 – 10 лет и поступивших в стационар в состоянии неосложненной алкогольной абстиненции. У всех пациентов согласно классификации И.Н. Пятницкой [6] была установлена 2-я стадия А. Пациенты с циррозом печени, лабораторными признаками активного гепатита, сопутствующей патологией, а также перенесшие в состоянии абстиненции психоз, из обследования исключались. Вовлечение в патологический процесс почек отмечалось у 17 (29,8%) больных (1-я группа). Вторую группу (группа сравнения) составили 40 пациентов, тщательное обследование которых позволило исключить поражение почек (А без ПП). Различия между пациентами 1-й и 2-й групп по возрасту, продолжительности А, частоте развития абстинентного синдрома, требующего обращения за медицинской помощью в анамнезе (в среднем 2 эпизода в год), и дозам потребляемого алкоголя (в среднем 34 ± 6 мл этанола на 1 килограмм массы тела в неделю) не достигали статистической и клинической значимости. В контрольную группу вошло 20 практически здоровых лиц со сходными демографическими характеристиками.

Программа исследования включала анализ данных медицинских карт амбулаторного больного, рутинные клинические и лабораторные тесты, принятые в нефрологической клинике. Скорость клубочковой фильтрации рассчитывалась с помощью модифицированного уравнения D.W. Cockcroft и M.H. Gault. У всех пациентов выполнено ультразвуковое исследование почек, органов брюшной полости и сердца, зарегистрирована электрокардиограмма, проведена консультация офтальмолога.

Активность СрОЛ и антиоксидантной защиты (АОЗ) определяли в эритроцитах, предварительно отмытых физиологическим раствором от плазмы крови. Оценка состояния СрОЛ включала определение содержания малонового диальдегида (МДА) в тесте с тиобарбитуровой кислотой [7], а также

диеновых конъюгатов (ДК) и липидов в гексановых экстрактах спектрофотометрическим методом [8]. Индекс окисленности липидов (ИОЛ) определяли как отношение количества ДК и содержания липидов [9]. О потенциале АОЗ судили по активности каталазы (КАТ) и супероксиддисмутазы (СОД) [10, 11], а также суммарной концентрации витамина Е, определяемой флюорометрическим методом при возбуждении светом 295 нм с эмиссией 322 нм [12].

Статистический анализ полученных данных проводился при помощи пакета статистических программ «STATISTICA for Windows 5.0» (StatSoft, Inc.). Количественные данные вне зависимости от типа распределения представлены в виде $\bar{X} \pm m$ (среднее $\pm$ стандартная ошибка среднего). Статистическую значимость различий между двумя независимыми количественными переменными при нормально распределенной совокупности оценивали, используя двусторонний вариант критерия Стьюдента. Аналогичную задачу при распределении признака, отличающегося от нормального, решали, используя U-критерий Манна-Уитни. С учетом числа групп сравнения при оценке статистической значимости различий применяли поправку Бонферрони. Силу связи между изучаемыми показателями и ее направленность выражали через коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клинические проявления абстинентного синдрома (значительный тремор рук, языка или век, анорексия, нарушение ритма сердца, кратковременное повышение системного артериального давления, одышка, потливость, головная боль, тревога, бессонница и др.) и его продолжительность (3 – 5 дней) у пациентов 1 и 2-й групп были идентичны. Транзиторные нарушения пуринового обмена (гиперурикемия была характерна для первых дней абстинентного синдрома) у больных 1 и 2-й групп встречались с одинаковой частотой.

Вовлечение в патологический процесс почек у пациентов 1-й группы было подтверждено наличием эритроцитурии (в среднем 3500 ± 450 эритроцитов в 1 мл), протеинурии (от 0,22 до 0,45 г/сут) и умеренным снижением скорости клубочковой фильтрации (в среднем до $82,3 \pm 5,6$ мл/мин). Характеристики (микрогематурия, минимальная протеинурия) и стойкость (не менее 3 месяцев) мочевого синдрома, его определенная связь со злоупотреблением алкоголя, а также результаты выполненного в клинике обследования позволили обсуждать диагноз одной из наиболее часто встречающихся «почечных» форм алкогольной болезни – хроничес-

**Показатели свободнорадикального окисления липидов
и антиоксидантной защиты у больных 1-й, 2-й групп и здоровых лиц ($\bar{X} \pm m$)**

Показатели	Контроль (n = 20)	1-я группа (n = 17)	2-я группа (n = 40)
МДА, мкмоль/г гемоглобина	0,120±0,004	0,253 ± 0,007**	0,160±0,006*
ИОЛ	0,510±0,020	0,810±0,040**	0,646±0,070*
ДК, Д233/мл	0,451±0,007	0,760±0,090**	0,533±0,040*
КАТ, мкат/г белка	55,19±6,18	39,89±4,16**	61,06±5,11*
Витамин Е, мкмоль/г гемоглобина	10,93±0,38	7,13±0,21*	8,76±0,31*
СОД, ЕД/г белка	243,76±21,35	206,64±26,70*	241,52±22,15

Примечание. Статистическая значимость ($p < 0,017$) различий: * – с группой контроля; ^ – со 2-й группой.

вых липидов липидные радикалы («ловушка радикалов»), оказался ниже, чем в контрольной группе (на 53,3% и 24,7% соответственно; $p < 0,017$).

Активность СОД, осуществляющей восстановление супероксидного анион-радикала, у больных А без

ПП практически не отличалась от контрольных значений, а в группе больных А с ПП статистически значимо превышала (на 17,9%) аналогичный показатель в группе здоровых лиц.

При корреляционном анализе были установлены статистически значимые ($p < 0,05$) взаимосвязи степени усиления СрОЛ и снижения активности АОЗ у пациентов 1-й группы с длительностью А, уровнем креатинина и скоростью клубочковой фильтрации.

Известно, что КАТ является гемсодержащим ферментом, максимум которого находится в эритроците. Уменьшение активности КАТ может быть следствием изменения в ходе СрОЛ конформации белков и липидов мембраны эритроцита, что в свою очередь приводит к увеличению проницаемости последней для перекиси водорода и, в конечном итоге, выхода КАТ из клетки.

Как видно из представленных в таблице данных, у больных А запасы эндогенного токоферола в эритроцитах истощаются. Снижение токоферола вызывает выраженную активацию лизосомальных ферментов, выход которых за пределы лизосом может стать источником целого ряда нежелательных биохимических реакций, оказывающих дестабилизирующее действие на клеточные мембраны [13].

ОБСУЖДЕНИЕ

Как и другим исследователям [1, 14], нам не удалось отметить какие-либо патогномоничные для поражения почек у больных, длительно употребляющих этанол, клинические и лабораторные признаки заболевания. Не выявлено также статистически значимой связи последних с уровнем урикемии.

Несмотря на то, что у всех обследованных пациентов 1-й группы имелись основания обсуждать диагноз «хронический алкогольный гломерулонефрит», мы, естественно, не можем исключить и сочетание А с первичным заболеванием почек. Одно можно утверждать уверенно – активация СрОЛ,

кий алкогольный гломерулонефрит [1].

Оценка активности СрОЛ по концентрации первичного (ДК) и конечного (МДА) продуктов, свидетельствует о повышении интенсивности свободнорадикальных процессов у больных, страдающих А. Как видно из представленных в таблице данных, значения всех изучаемых показателей, отражающих СрОЛ, у больных А были статистически значимо выше, чем в группе контроля. Так, уровень МДА у больных 2-й группы превышал аналогичный показатель в группе контроля на 33%, ИОЛ – на 26,7%, ДК – на 44% ($p < 0,017$ для всех сравнений). У больных А с ПП выявлено еще более значительное накопление продуктов СрОЛ по сравнению с контролем и группой сравнения. Уровень МДА у больных 1-й группы оказался на 110,8% выше, чем в контрольной группе, и на 58,1% превышал значение в группе сравнения ($p < 0,017$ для всех сравнений). Содержание ДК у этих пациентов было также выше, чем в группе здоровых лиц (на 93,5%) и больных 2-й группы (на 42,6%).

Накопление продуктов СрОЛ у больных А ассоциировалось со снижением содержания субстратов окисления, что закономерно привело к повышению значения ИОЛ, которое было максимально выражено в группе пациентов с поражением почек. Значение этого показателя у пациентов 1-й группы было выше ($p < 0,017$), чем у больных А без ПП (на 25,3%) и у здоровых лиц (на 58,8%).

С учетом выявленной у больных А с ПП интенсификации СрОЛ не могут показаться случайными данные, указывающие на депрессию у этих пациентов эффективности механизмов АОЗ. Так, у пациентов А с ПП активность КАТ, разрушающей H_2O_2 в тканях, на 38,4% была ниже таковой у практически здоровых лиц, и на 53,1% ниже, чем в группе больных А без ПП ($p < 0,017$ для всех сравнений).

Как у больных 1-й группы, так и пациентов 2-й группы (межгрупповые различия не были статистически значимы) уровень токоферола, обезвреживающего образовавшиеся при окислении полиено-

развивающаяся на фоне угнетения АОЗ, у этих пациентов является практически облигатной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Можно предполагать формирование у больных А порочного круга – инициированные алкоголем и его метаболитами свободнорадикальные процессы (так называемый неферментативный путь инициации) не ассоциируются с достаточной мобилизацией механизмов АОЗ, что приводит к дополнительной активации СрОЛ и еще большему истощению потенциала систем, ограничивающих накопление образующихся при окислительной деградации липидных гидропероксидов высокотоксичных продуктов, способных «атаковать» молекулы белков и нуклеиновых кислот, определяя тяжелое течение А с вовлечением в патологический процесс различных органов и систем, в том числе и почек.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Николаев АЮ. Поражение почек при алкоголизме. В: Тареева ИЕ, ред. *Нефрология: руководство для врачей*. Медицина, М., 1995, Том 2; 281-298
2. Ставская ВВ. Алкогольные поражения почек. В: Рябов СИ, ред. *Нефрология: руководство для врачей*. Спец-Лит, СПб., 2000; 371-379
3. Макаренко СВ. Токсические нефропатии. В: Шулутокко БИ, ред. *Нефрология 2002. Современное состояние проблемы*. Ренкор, СПб., 2002; 526-532
4. Езриелев ГИ. *Новые аспекты патогенеза алкоголизма*. Медицина, Л., 1975
5. Bondy S. Etanol toxicity and oxidative stress. *Toxicol Lett* 1992; 63 (3): 231-241
6. Пятницкая ИН. *Наркомании*. Медицина, М., 1994
7. Андреева ЛИ, Кожемякин ЛА, Кишкун АА. Модификация метода определения перекиси липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. *Лаб дело* 1988; 11: 41-43
8. Косухин АВ, Ахметова ЭС. Экстракция липидов для определения диеновых конъюгатов. *Лаб дело* 1987; 5: 113
9. Погосов АВ. Перекисное окисление липидов при острой и хронической интоксикации. *Вопросы наркологии* 1994; 4: 60-65
10. Королюк МА, Иванова ЛИ, Майорова ИГ, Токарев ВЕ. Метод определения активности каталазы. *Лаб дело* 1988; 1: 24-23
11. Брусов ОС, Герасимов АН. Определение активности супероксиддисмутазы. *Бюлл эксперим биол мед* 1976; 6: 3-7
12. Лебедев АС, Афанасьев СА, Алексеева ЕД. Влияние возраста и ишемии на уровень липоперекисей и липидорастворимых антиоксидантов в сердце человека. *Бюлл эксперим биол мед* 1995; 6: 584-586
13. Селедцов АМ. Перекисное окисление липидов и состояние антиоксидантных систем при опийной наркомании и алкоголизме. *Вопр мед химии* 1995; 3: 50-53
14. Шулутокко БИ. *Нефрология 2002. Современное состояние проблемы*. Ренкор, СПб., 2002; 780

Поступила в редакцию 23.10.2008 г.

Принята в печать 10.02.2009 г.