

© П.А.Казарян, А.С.Баблоян, К.В.Егизарян, 2008
УДК 616.61-008.64-036.92-092:534.121.2

П.А. Казарян^{1,2}, А.С. Баблоян³, К.В. Егизарян⁴

МЕМБРАННЫЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ТЕРМИНАЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

P.A. Kazarian, A.S. Babloyan, K.V. Egiazarian

THE MEMBRANE ASPECTS OF PATHOGENESIS OF END STAGE RENAL DISEASE

¹ Гематологический центр им. проф. Р.О.Еоляна, ²кафедра фармацевтической химии Ереванского государственного университета, ³кафедра педиатрии и детской хирургии N1 Ереванского государственного университета, ⁴клинико-лабораторный отдел Медицинского центра «Арабкир», Ереван, Армения

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Изучить особенности изменения коэффициентов фосфолипид-фосфолипидных соотношений и интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах эритроцитов крови больных с терминальной почечной недостаточностью (ТПН). **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Исследовались мембраны эритроцитов крови 44 больных ХПН в возрасте от 18 до 70 лет. Контролем служила кровь практически здоровых 22 доноров той же возрастной группы. Фракционирование индивидуальных ФЛ проводили методами тонкослойной хроматографии. Активность ПОЛ определяли по реакции малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Установлено, что в эритроцитарных мембранах крови больных ХПН наблюдается резкое повышение коэффициента соотношения ЛФХ/ФХ, ФИ/ФХ и снижение - ФХ/ФК, ФЭ/ФК с одновременным усилением интенсивности процессов ПОЛ. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Изучение состояния фосфолипидных и белковых компонентов биомембран может дать дополнительную информацию о липид-липидных и липид-белковых взаимоотношениях, играющих существенную роль в патогенезе ХПН.

Ключевые слова: хроническая почечная недостаточность, патогенез, эритроциты, гемодиализ, липиды, фосфолипиды, АТФазы.

ABSTRACT

THE AIM. To evaluate the features of the coefficient changes of phospholipid - phospholipid ratio and intensity of POL processes in erythrocyte membrane of ESRD patients. **PATIENTS AND METHODS.** The membranes of erythrocytes of 44 ESRD patients at the age of 18 to 70 years old were evaluated. As the control we used the blood of 22 practically healthy donors of the same age group. The fractioning of individual PL was done by means of thin layer chromatography. The activity of POL was determined by the reaction of the malone dialdegid (MDA) with tiobarbiturate acid. **RESULTS.** Was determined that in erythrocyte membranes of ESRD patients was significant increase in coefficient ratio of LPH/PH; PI/PH and decrease - PH/PA, PA/PA with simultaneous increase in the intensiveness of POL processes. **CONCLUSION.** The evaluation of the state of phospholipids and protein components of biomembranes can give additional information on lipid-lipid interconnection, which plays an important role in pathogenesis of ESRD.

Key words: end stage renal disease, pathogenesis, erythrocytes, hemodialysis, lipids, phospholipids, ATPase.

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, в патогенезе хронической болезни почек, а также её осложнений важную роль играют нарушения антиоксидантного статуса организма, ведущие к токсическому повреждению клеточных мембран и углублению синдрома эндогенной интоксикации [1, 2]. Установлено [3, 4], что гиперлипидемия весьма распространена у пациентов с терминальной почечной недостаточностью (ТПН), в том числе и у тех, кто подвергается гемодиализу. В отличие от картины, наблюдаемой в случае нефротического синдрома, при почечной

недостаточности гипертриглицеридемия встречается гораздо чаще, чем гиперхолестеринемия. Гипертриглицеридемия возникает, по-видимому, в результате нарушения процессов липолиза, что происходит скорее всего из-за ингибирования липопроteinлипазы невыявленными до настоящего времени факторами, присутствующими в уремической плазме [3,5,6]. С другой стороны, нарушение липидного обмена имеет место и при развитии амилоидоза почек. Установлено [3], что весьма частым признаком выраженного амилоидоза является гиперлипидемия. Повышение содержания холестерина с нарушением соотношения липопротеидов и увеличением β-липопротеидов, триглицеридов крови может быть весьма значительным,

Казарян П.А. 375014, Республика Армения, Ереван, ул. Г.Нерсисяна 7, Гематологический центр им. проф. Р.Еоляна; тел.: +37410 28-38-90, +37491 300616; E-mail: ghazarpa@yahoo.com

хотя и не столь высокой степени, как при хроническом нефрите нефротического типа.

Гиперхолестеринемия обычно сохраняется у истощенных больных так же, как в уремической стадии вместе с высокой протеинурией и отеками. Такие сочетания массивной протеинурии, гипопро-теинемии с гипоальбуминемией, гиперхолестеринемии и отеков, составляющие классический нефротический синдром, являются весьма характерными для амилоидоза почек.

Вместе с тем роль нарушения метаболизма мембранных липидов, в частности, фосфолипидов (ФЛ), а также интегральных белков в механизмах патогенеза ТПН изучена недостаточно. Существует тесная связь между концентрационными изменениями мембранных фосфатидов-глицеридов, в частности, фосфатидилхолинов (ФХ), лизофосфатидилхолинов (ЛФХ), фосфатидилэтаноламинов (ФЭ), фосфатидилсеринов (ФС) и деятельностью Na/K- и Mg-АТФаз [7, 8]. Определенную роль играют также фосфатидинозиты (ФИ) и фосфатидные кислоты (ФК). Следовательно, для нормальной деятельности интегральных белков – системы АТФаз и обеспечения липид-белкового взаимодействия необходима структурная целостность плазматической мембраны.

Трудности своевременной диагностики и терапии ТПН, а также оценки эффективности проводимого лечения заключаются в отсутствии информативных биомаркеров, характеризующих общность факторов нарушенных метаболических процессов. Следовательно, поиск высокоинформативных биохимических параметров и разработка на их основе чувствительных диагностических критериев оценки поражений этих систем и эффективности проводимой терапии представляются весьма актуальным.

Вышеизложенное послужило основанием для исследования основных фосфолипидных компонентов и коэффициентов их соотношений, а также скорости процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах эритроцитов крови до и после гемодиализа у больных ТПН.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследовались мембраны эритроцитов крови 44 больных ХПН в возрасте от 18 до 70 лет. Контролем служила кровь практически здоровых 22 доноров той же возрастной группы.

Фракционирование индивидуальных ФЛ проводили методами тонкослойной хроматографии [9] в модификации П.А.Казаряна [10]. В каждой фракции определяли содержание неорганического фосфора [11].

Изменение коэффициентов соотношений ЛФХ/ФХ, ФЭ/ФХ, ФИ/ФХ, ФХ/ФК, ФЭ/ФК и ФС/ФК в эритроцитах крови при ТПН до и после гемодиализа ($\bar{X} \pm m$)

ФЛ соотношения	Норма	До гемодиализа	После гемодиализа
ЛФХ/ФХ	0,09±0.01	0,44±0.03 P<0.001	0,15±0.01 P ₁ <0.01 P ₂ >0.05
ФЭ/ФХ	0,40±0.03	0,46±0.04 P>0.5	0,38±0.02 P ₁ >0.02 P ₂ >0.05
ФИ/ФХ	0,14±0.01	0,32±0.02 P<0.01	0,12±0.01 P ₁ <0.01 P ₂ >0.5
ФХ/ФК	22,20±1.14	3,3±0.19 P<0.001	10,04±1.03 P ₁ <0.01 P ₂ <0.05
ФЭ/ФК	8,61±0.70	1,5±0.02 P<0.001	3,92±0.20 P ₁ <0.01 P ₂ <0.01
ФС/ФК	3,40±0.21	2,5±0.09 P<0.05	2,80±0.11 P ₁ >0.5 P ₂ >0.05

Примечание: P – по сравнению данных до гемодиализа с нормой, P₁ – по сравнению данных после гемодиализа с данными до гемодиализа, P₂ – по сравнению данных после гемодиализа с нормой.

Активность ПОЛ определяли по реакции малонового диальдегида (МДА) с тиобарбитуровой кислотой [12].

Полученные данные обрабатывали статистически с учетом критерия достоверности Фишера-Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для оценки состояния липидных и белковых компонентов биомембран, в частности, структурно-функциональной целостности мембран эритроцитов при ХПН до и после проводимого гемодиализа нами был исследован спектр липидных компонентов мембран и их соотношений – ЛФХ/ФХ, ФЭ/ФХ, ФИ/ФХ, ФЭ/ФХ и ФС/ФК, характеризующих состояние как процессов распада, так и биосинтеза глицеролипидов [13], а также их взаимопревращения [3]. Отклонения в содержании этих фосфатидов и указанных соотношений могут привести к изменению микровязкости мембранных структур и, следовательно, нарушению проницаемости биомембран в отношении ионов и веществ.

В результате проводимых нами исследований (таблица) установлено, что в эритроцитарных мембранах крови больных ТПН наблюдается резкое (многократное) повышение коэффициента соотношений ЛФХ/ФХ, ФИ/ФХ. и снижение – ФХ/ФК, ФЭ/ФК, что свидетельствует о преобладании процессов дегградации важнейших мембранных фосфатидов-глицеридов. Изменение величины соотношения ФС/ФК менее выражено. Сдвиги в уровне ука-

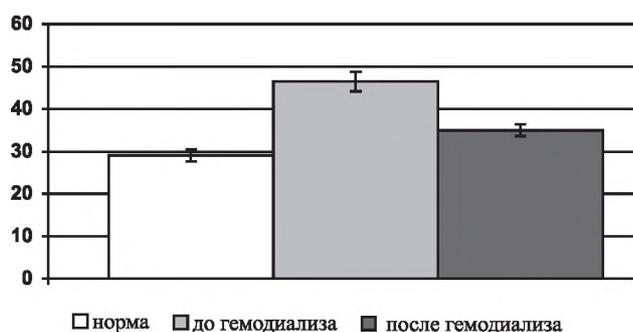


Рисунок. Изменения активности ПОЛ (в усл. ед.) в мембранах эритроцитов крови у больных ТПН до и после гемодиализа.

занных показателей могут привести к значительному изменению вязкости липидного бислоя мембран и его функциональной активности при ТПН [3, 8].

Для выяснения механизмов, лежащих в основе нарушений спектра мембранных фосфолипидов и их соотношений при ТПН, исследовали также интенсивность процессов ПОЛ в мембранах эритроцитов крови (рисунок).

Примечательно, что после проводимого гемодиализа (таблица, рисунок) наблюдается определенная нормализация большинства изученных показателей.

ОБСУЖДЕНИЕ

Итак, в результате проводимых нами исследований установлено существенное изменение коэффициентов фосфолипид-фосфолипидных соотношений эритроцитарных мембран у больных ТПН. При этом выявлена тесная связь интенсивности течения процессов ПОЛ и уровня мембранных ФЛ эритроцитов крови. Вместе с тем функциональная активность интегральных белков биомембран, в частности, ионтранспортных ферментных систем – АТФаз, полностью зависит от их фосфолипидного окружения, количественного и качественного состава этих соединений.

Как известно, нарушение при ТПН трансмембранного потока жидкости и ионов сопровождается нарастанием внутриклеточного содержания натрия, снижением внутриклеточного калия, осмотически индуцируемой гипергидратацией клеток и падением трансклеточного электрического потенциала [14-18].

Как показали результаты наших предыдущих исследований [8], структурные изменения биомембран привели к разнонаправленным сдвигам активности ионтранспортных ферментных систем. Согласно этим данным, при ТПН наблюдается рез-

кое подавление деятельности общей АТФазы и Na/K-АТФазы, на фоне заметного повышения активности Mg-АТФазы в эритроцитарных мембранах обследованных больных, что, на наш взгляд, является решающим в механизмах существенного нарушения функциональной активности эритроцитов крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, изучение состояния фосфолипидных и белковых компонентов биомембран может дать дополнительную информацию о липид-липидных и липид-белковых взаимоотношениях, играющих существенную роль в патогенезе ТПН.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Stenvinkel P, Holmberg I, Heimburger O, Diczfalusy U. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13(10): 2594–2600
2. US Renal Data System annual data report. Incidence and prevalence of ESRD. *Am J Kidney Dis* 1996; 28 [suppl 2]: 34S–37S
3. Казарян ПА, Егиазарян КВ. *Новое в гематологии и трансфизиологии* 2007(6): 174–179
4. Anonymous Part 1. Executive summary. *Am J Kidney Dis* 2002; 39:17-31
5. Белоусова ЮБ. Поражение органов-мишеней при артериальной гипертензии. *Тер арх* 1997; 69(4): 12–15
6. Бибков БТ, Томилина НА. О состоянии заместительной терапии больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 2000 г. (Отчет по данным Российского регистра). *Нефрология и диализ* 2002; (3): 148–170
7. Болдырев АА. Na/K-АТФ-аза – свойства и биологическая роль. *Биология* 1998; 31
8. Егиазарян КВ, Казарян ПА, Саакян ЛС. *Вестник МА-НЭБ* 2005; 10(6): 242–245
9. Шталт Э, ред. *Хроматография в тонких слоях*. М., 1965; 506
10. Казарян ПА, Элоян ДВ. *Хроматографические методы (распределительная и адсорбционная хроматография)*. ЦОЛИУВ, М., 1982; 20–40
11. Светашев ВИ. *Микротехника анализа липидов и ее использование*. Автореф. дис... канд. хим. наук. Владивосток, 1973; 25
12. Ланкин ВЗ, Гуревич СМ, Бурлакова ЕБ. В: *Биоантикислители*. М., 1975; 73-80
13. Казарян ПА, Элоян ДВ. *Нарушения фосфолипидного обмена*. М., 1985; 2–10
14. Калугина ГВ, Калущанцева МС, Шехаба ЛФ. *Хронический пиелонефрит*. Медицина, М., 1993
15. Мартынова МИ, Морченко ЛФ, Картелишев АВ и др. *Диабетическая нефропатия*. *Педиатрия* 2003; (5): 93–94
16. Новогодцева ТП, Вязова АВ, Жукова НВ. *Клиническая лабораторная диагностика* 2006; (2): 7–9
17. Папаян АВ, Архипов ВВ. Консервативная терапия хронической почечной недостаточности у детей и подростков. *Педиатрия* 2001; (6): 80–86
18. Жмуров ВА, Фролова АБ, Ковальчук ДЕ, Швайбович СА. Структурно-функциональные нарушения мембран эритроцитов у больных с терминальной почечной недостаточностью и анемией: Влияние рекомбинантного человеческого эритропоэтина. *Нефрология* 2008; 12(1): 24-28

Поступила в редакцию 6.05.2008 г.

Принята в печать 22.10.2008 г.