© Коллектив авторов, 1998
УДК 616.153:616.61

А.И.Куликова, Ф.А.Тугушева, И.М.Зубина, С.В.Барановская, В.В.Козлов

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПАРАМЕТРОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ И АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА КРОВИ С УРОВНЕМ ТРИГЛИЦЕРИДОВ СЫВОРОТКИ БОЛЬНЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПОЧЕК

A.I.Kulikova, F.A.Tugusheva, I.M.Zubina, S.V.Baranovskaya, V.V.Kozlov

THE INTERRELATIONS BETWEEN THE INDICES OF LIPOPEROXIDATION AND ANTIOXIDANT STATUS OF BLOOD AND THE LEVEL OF SERUM TRIGLYCERIDES IN PATIENTS WITH RENAL DISEASES

Научно-исследовательский институт нефрологии и лаборатрия урологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им.акад.И.П.Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

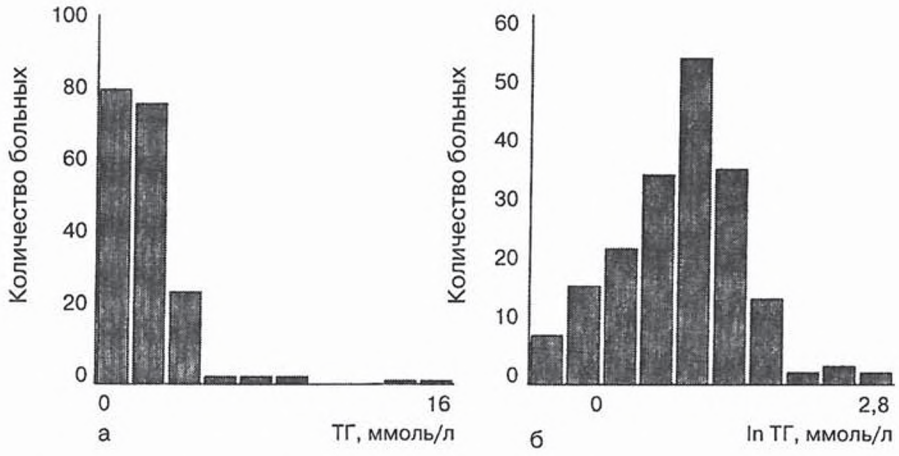
Проведен анализ взаимосвязи уровня триглицеридов (ТГ) сыворотки с содержанием продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и параметрами системы антиоксидантной защиты (АОЗ) крови больных с заболеваниями почек (ЗП). В крови 364 больных с ЗП определяли уровни диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в качестве продуктов ПОЛ. Содержание общих и небелковых восстановленных сульфгидрильных групп (T-SH гр. и NP-SH гр., соответственно), токоферолподобных соединений (ТФ), активность каталазы и общая пероксидазная активность (ОПА) характеризовали систему АОЗ. Определяли также уровни ТГ, общих липидов (ОЛ) и общего белка (ОБ). Корреляционный анализ выявил взаимосвязь уровня ТГ не только с параметрами плазмы (ДК, МДА, ОЛ), но и эритроцитов (МДА, ОЛ, T-SH гр.). Гипертриглицеридемия не сопровождается накоплением в эритроцитах МДА и истощением ОЛ и сохраняет уровень T-SH гр. вполне достаточным. По результатам кластерного анализа, проведенного с помощью метода восстановления отсутствующих данных, больные были разделены на 2 кластера. Первый (272 человека) отличала выраженная гипертриглицеридемия и накопление ДК и ОЛ в плазме, а в эритроцитах отмечено только умеренное снижение ТФ и ОПА. Во втором кластере (92 человека), наоборот, эритроциты характеризуются значительным накоплением МДА и падением уровней ОЛ и ОПА. Кластеры достоверно отличались друг от друга по уровням ТГ, ДК, ОБ и ОЛ плазмы, а в эритроцитах — по содержанию МДА, ТФ, NP-SH гр., ОЛ и ОПА. Подобные результаты получены при делении больных на группы с выраженной и умеренно выраженной гипертриглицеридемией. Полученные данные требуют дальнейшего анализа, так как не ясно, какие механизмы лежат в основе сохранения в пределах нормы большинства показателей эритроцитов больных на фоне высокого уровня ТГ. Следует обращать самое пристальное внимание на антиоксидантный статус крови у всех больных с ЗП и по возможности корректировать его путем добавления в схемы лечения препаратов, повышающих антиоксидантный потенциал организма.

Ключевые слова: заболевания почек, триглицериды, липопероксидация.

ABSTRACT

The interrelation between the level of serum triglycerides (TG) and the contents of lipid peroxidation (LP) products and the antioxidant (AO) parameters of blood of patients with renal diseases (RD) was analyzed. In blood of 364 patients the levels of diene conjugates (DC) and malone dialdehyde (MDA) as the LP products were determined. The contents of tocopherol-like compounds (TP), total and nonprotein sulfhydril groups (T-SHgr. and NP-SHgr. correspondingly), the catalase and total peroxidase activities (TPA) characterized the AO system. The levels of TG, total protein (TPr) and total lipids (TL) were also evaluated. The correlation analysis revealed the interconnections of the TG level not only with the plasma parameters (DC, MDA, TL), but also with the indices of erythrocytes (MDA, T-SHgr., TL). The increase of serum TG was not accompanied by the MDA accumulation and the depletion of TL in erythrocytes. At the same time the level of T-SHgr. was quite sufficient. The cluster analysis was supported by the method of the missing data reconstruction. The patients were divided into 2 clusters. The first one (272 patients) was characterized by a considerable increase of TG, DC and TL in the plasma, but the only disturbances in erythrocytes were moderately decreased TP and TPA. On the contrary,in the second cluster (92 patients) there were considerable accumulation of MDA and the decreased TL and TPA in the erythrocytes. The reliable differences between the two clusters are found in the plasma levels of TG, DC, TPr and TL; in erythrocytes — MDA, TP, NP-SH gr., TL and TPA. Similar results were obtained when the data of patients with pronounced and moderate increase of TG were analyzed separately. The data obtained need further analysis because it is not clear yet what concrete mechanisms are responsible for the preservation of erythrocyte parameters against the background of high TG level. More attention should be given to the AO status of erythrocytes in all the patients with RD. The AO status of erythrocytes in all the patients with RD. The AO status must be corrected by adding medicines with AO properties to traditional combinations.

Key words: renal diseases, triglycerides, lipoperoxidation.



Гистограмма распределения уровней ТГ сыворотки у больных с заболеваниями почек.

а — исходные данные;

б — после логарифмирования величин содержания ТГ сыворотки.

ВВЕДЕНИЕ

Практически все хронические заболевания почек, центральное место среди которых занимает хронический гломерулонефрит (ХГН), протекают на фоне выраженных нарушений обмена липидов. Наиболее характерными среди этих нарушений являются гипертриглицеридемия, гиперхолестеринемия, гипоальфахолестеринемия, сочетающиеся со значительными сдвигами в белковом составе липопротеидных комплексов, а также падение активности липопротеидлипазы и триглицеридлипазы. Вышеперечисленные нарушения являются доказанными факторами атерогенеза и наиболее выражены у больных с нефротическим синдромом (НС) и на стадии хронического нарушения функции почек (ХПН) [3, 6, 9]. Возникновение гипер- и дислипопротеидемий создает благоприятные условия для стимуляции перекисного окисления липидов (ПОЛ) и приводит к абсолютной или относительной недостаточности факторов системы антиоксидантной защиты (АОЗ) [1, 2].

В ходе наших более ранних исследований были выявлены значительные нарушения в системе ПОЛ–АОЗ у больных с заболеваниями почек (ЗП), которые также были наиболее выражены на фоне НС и ХПН. Так, наиболее характерными для обследованных больных являются накопление первичных продуктов ПОЛ-диеновых конъюгатов (ДК) и почти двукратное падение уровня общих сульфгидрильных групп (Т-SH гр.) в плазме, а в эритроцитах — значительное накопление конечного метаболита ПОЛ малонового диальдегида (МДА) и снижение активности защитных ферментов — каталазы (КАТ) и общей пероксидазной активности (ОПА). Очень важно отметить, что выявленные нарушения возникали независимо от морфологической формы ХГН, длительности его течения, варианта лечения, пола, возраста пациентов и т. д. Специфика состояния системы ПОЛ–АОЗ у больных с ЗП на фоне НС и при ХПН неоднократно описана нами ранее [7, 8].

Целью настоящего исследования стало изучение взаимосвязи параметров системы ПОЛ–АОЗ крови с уровнем триглицеридов (ТГ) сыворотки крови больных с ЗП.

Таблица 1

Величины коэффициентов линейной корреляции (r) между параметрами системы ПОЛ–АОЗ плазмы и эритроцитов и уровнем ТГ сыворотки

Показатель плазмы	r	Показатель эритроцитов	r
ДК	+0,63 (189) p<0,0000	МДА	–0,16 (187) p<0,0281
МДА	+0,21 (186) p<0,0042	ТФ	–
ТФ	–	Т-SHгр.	+0,16 (169) p<0,0394
Т-SHгр.	–	NP-SHгр.	–
ОБ	–	ОБ	–
ОЛ	+0,63 (190) p<0,0000	ОЛ	+0,21 (190) p<0,0036

Примечание. В скобках указано число опытов, прочерк означает отсутствие корреляционной связи.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Анализу были подвергнуты результаты обследования 364 больных, из которых у 81% (295 пациентов) ХГН был верифицирован морфологически. Второй по представительности группой больных были пациенты с хроническим пиелонефритом (40 человек). Материалом исследования являлась свежевыпущенная венозная кровь, стабилизированная гепарином. Только ОПА и КАТ определяли в цельной крови, уровни остальных показателей выявляли раздельно в плазме и эритроцитарной взвеси с помощью стандартных методик с незначительной модификацией. Об уровне ПОЛ судили по накоплению ДК в плазме и МДА в плазме и в

эритроцитах. Состояние АОЗ оценивали по содержанию токоферолподобных компонентов (ТФ), общих и небелковых восстановленных сульфгидрильных групп (T-SH гр. и NP-SH гр., соответственно). Уровни общего белка (ОБ) и общих липидов (ОЛ) служили в качестве вспомогательных показателей. Содержание компонентов в плазме выражали в стандартных единицах в расчете на единицу объема, а в эритроцитах — в расчете на содержание в материале ОЛ (для МДА и ТФ) и в расчете на объем взятого в анализ материала (для уровней T-SH гр. и NP-SH гр.). Полученные материалы были подвергнуты методам стандартной описательной статистики, корреляционного, множественного регрессионного и кластерного анализа.

Таблица 2

Величины параметров системы ПОЛ–АОЗ доноров и больных, разделенных на группы по результатам кластерного анализа, проведенного с использованием метода восстановления недостающих данных с помощью нелинейной интерполяции ($\bar{X} \pm m$)

Показатель	Доноры	Больные с ЗП		p_{1-2}
		Кластер 1, n=272	Кластер 2, n=92	
Сыворотка				
ТГ, ммоль/л	1,29±0,13 (25)	2,90±0,14*	2,29±0,10*	0,016
Плазма				
ДК,Е/мл	1,91±0,07 (114)	2,83±0,12*	2,39±0,17*	0,049
МДА, нмоль/мл	3,36±0,15 (97)	3,32±0,10	3,20±0,13	ns
ТФ, мкмоль/мл	0,26±0,01 (82)	0,33±0,01*	0,31±0,01*	ns
T-SHгр., мкмоль/мл	0,77±0,02 (66)	0,49±0,01*	0,49±0,02*	ns
ОБ, г/л	65,7±1,37 (111)	65,8±0,87	60,2±1,23*	0,001
ОЛ, г/л	4,54±0,13 (117)	6,84±0,21*	4,91±0,23	0,001
Эритроциты				
МДА, нмоль/мг ОЛ	22,9±1,24 (68)	20,0±0,48	51,5±1,39*	0,001
ТФ, мкмоль/мг ОЛ	2,15±0,13 (77)	1,68±0,04*	2,61±0,10*	0,001
T-SHгр., мкмоль/мл	2,24±0,09 (67)	2,34±0,06	2,36±0,09	ns
NP-SHгр., мкмоль/мл	0,16±0,02 (60)	0,18±0,01	0,15±0,01	0,004
ОБ, г/л	36,2±1,01 (101)	36,3±0,55	34,8±0,90	ns
ОЛ, г/л	0,52±0,02 (89)	0,61±0,02*	0,39±0,01*	0,001
Кровь				
КАТ, кмоль/ч·л	1,06±0,05 (20)	0,87±0,05	0,89±0,01	ns
ОПА, мкмоль/мин·г Hb	2,09±0,11 (21)	1,33±0,08*	1,44±0,15*	0,028

Примечание. Звездочка — данные статистически отличаются от данных доноров; ns — отсутствие статистически достоверной разницы между данными двух групп; в скобках указано число обследованных лиц.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе исследований было выявлено, что уровень ТГ у здоровых людей (25 доноров) составляет 1,29±0,13 ммоль/л. Уровень ТГ у больных с ЗП был определен в 190 случаях: минимальное значение составило 0,52 ммоль/л, максимальное — 33,0 ммоль/л. Гистограмма распределения позволила установить, что 45% данных (86 человек) укладывается в диапазон от 0,52 до 2,14 ммоль/л, 40% (76 человек) – в диапазон от 2,14 до 3,77 ммоль/л, у 10% больных (19 человек) уровень ТГ составлял от 3,77 до 5,39 ммоль/л и только в 9 случаях (5%) — превышает значение 5,39 ммоль/л. Таким образом, изучение распределения исходных величин ТГ выявило сдвиг вправо (коэффициент асимметрии, A=6,75; D=0,22; p<0,0001), которое, однако, после преобразования путем логарифмирования становится нормальным, гауссовским, при анализе по Колмогорову—Смирнову (D=0,06; p>0,10) (рисунок). Выявив логнормальное распределение значений ТГ, мы смогли путем последующей нелинейной интерполяции восстановить отдельные недостающие данные, после чего был применен кластерный анализ (метод K-средних).

Корреляционный анализ выявил множественные линейные взаимосвязи между уровнем ТГ и факторами ПОЛ–АОЗ, причем не только плазмы, но и эритроцитов (табл. 1).

Следующим этапом стало проведение кластерного анализа, при этом уровень ТГ сыворотки был принят в качестве основного кластерообразующего фактора. Результаты анализа позволили разделить больных на 2 кластера. Описание кластеров, сравнение их между собой, а также данные доноров приведены в табл. 2. В первый из кластеров вошли $^3/_4$ всех обследованных пациентов (272 человек). Этот кластер характеризуется более высоким, по сравнению

Таблица 3

Величины параметров системы ПОЛ–АОЗ доноров и больных, разделенных на группу с выраженной (группа 1) и умеренно выраженной (группа 2) гипертриглицеридемией ($\bar{X} \pm m$)

Показатель	Доноры	Больные с ЗП		p_{1-2}
		Группа 1	Группа 2	
Сыворотка				
ТГ, ммоль/л	1,29±0,13 (25)	4,79±0,53* (65)	1,69±0,05* (125)	0,001
Плазма				
ДК, Е/мл	1,91±0,07 (114)	3,51±0,28* (64)	2,09±0,13* (125)	0,001
МДА, нмоль/мл	3,36±0,15 (97)	3,59±0,21 (64)	3,29±0,12 (122)	ns
ТФ, мкмоль/мл	0,26±0,01 (82)	0,29±0,02 (65)	0,31±0,01* (125)	ns
Т-SHгр., мкмоль/мл	0,77±0,02 (66)	0,46±0,03* (55)	0,48±0,01* (116)	ns
ОБ, г/л	65,7±1,37 (111)	64,3±2,17 (65)	65,6±1,26 (116)	ns
ОЛ, г/л	4,54±0,13 (117)	8,27±0,53* (65)	4,89±0,17 (125)	0,001
Эритроциты				
МДА, нмоль/мг ОЛ	22,9±1,24 (68)	25,8±1,55 (64)	35,5±1,65* (123)	0,001
ТФ, мкмоль/мг ОЛ	2,15±0,13 (77)	1,82±0,09* (65)	2,09±0,08 (125)	0,030
Т-SHгр., мкмоль/мл	2,24±0,09 (67)	2,38±0,13 (52)	2,19±0,08 (117)	ns
NP-SHгр., мкмоль/мл	0,16±0,02 (60)	0,16±0,01 (55)	0,15±0,01 (118)	ns
ОБ, г/л	36,2±1,01 (101)	33,5±1,11 (65)	35,6±0,79 (122)	ns
ОЛ, г/л	0,52±0,02 (89)	0,55±0,03 (65)	0,48±0,02 (125)	0,036
Кровь				
КАТ, кмоль/ч·л	1,06±0,05 (20)	0,95±0,07 (9)	0,84±0,05* (11)	ns
ОПА, мкмоль/мин·г Hb	2,09±0,11 (21)	1,44±0,17* (19)	1,19±0,13* (18)	ns

Примечание. Звездочка — данные статистически отличаются от данных доноров; в скобках указано число обследованных лиц; ns — отсутствие статистически достоверной разницы между данными двух групп.

со вторым, уровнем ТГ и ОЛ и, как следствие, большим накоплением в плазме ДК. С другой стороны, содержание ОБ в плазме у этих больных также несколько выше.

Наиболее интересные данные получены при исследовании эритроцитов. Так, при выраженной гипертриглицеридемии в эритроцитах сохраняется достаточный уровень ОЛ и восстановленных сульфгидрильных групп и не происходит накопления МДА. Только некоторое понижение уровня токоферола и ОПА свидетельствует о нарушении баланса в системе ПОЛ–АОЗ эритроцитов у больных с ЗП. В то же время умеренное повышение ТГ в сыворотке (кластер 2) сопровождается двукратным накоплением в них МДА и падением ОЛ, что не может предотвратить ни несколько повышенный уровень ТФ, ни достаточное содержание восстановленных тиолов. Достоверные различия между двумя полученными кластерами найдены по уровням ТГ, ДК, ОБ и ОЛ плазмы и по соедржанию МДА, ТФ, NP-SH гр., ОЛ и ОПА эритроцитов.

Как уже указывалось выше, для проведения кластерного анализа мы воспользовались возможностью восстановить недостающие значения методом интерполяции, абсолютно обоснованного в данном случае в силу большого объема наблюдений и устойчивого характера полученных оценок. Приняв уровень ТГ сыворотки в качестве основного кластеробразующего фактора, мы получили среднее значение его в первом кластере 2,90 ммоль/л, а во втором — 2,29 ммоль/л. Таким образом, граница по содержанию ТГ между двумя кластерами составляет приблизительно 2,6 ммоль/л. Приняв за основу этот факт, мы для дальнейшего анализа вычленили данные только тех 190 больных, у которых реально было проведено определение уровня ТГ. В первую группу (65 пациентов) вошли больные, уровень ТГ сыворотки которых составил более 2,6 ммоль/л, а во вторую (125 человек) — содержание ТГ у которых было менее 2,6 ммоль/л. Достоверная разница между этими двумя группами пациентов была выявлена по уровням ДК и ОЛ плазмы, МДА, ТФ и ОЛ эритроцитов (табл. 3). В отличие от результатов кластерного анализа с использованием метода восстановления недостающих значений не найдено различий по содержанию ОБ плазмы, ОПА и NP-SHгр. эритроцитов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, проведенный анализ выявил взаимосвязь уровня ТГ сыворотки крови больных с ЗП с показателями системы ПОЛ–АОЗ не только плазмы (что было вполне предсказуемо), но и красных кровяных клеток. В плазме увеличение содержания ТГ вполне за-

кономерно способствует липопероксидации и накоплению продуктов ПОЛ, о чем свидетельствует наличие прямой положительной корреляции между уровнем ТГ и содержанием ДК и МДА (см. табл. 1). В эритроцитах, наоборот, гипертриглицеридемия приводит к понижению накопления МДА и предотвращает истощение ОЛ. Повышение концентрации ТГ сыворотки оказывает своего рода защитное действие на эритроциты от избыточной липопероксидации также путем поддержания общих восстановленных тиолов красных кровяных клеток. Данные кластерного анализа, проведенного с помощью метода восстановления отсутствующих данных, однозначно подтверждают этот вывод: наряду с увеличением накопления ДК в плазме, при гипертриглицеридемии сохраняются на нормальном уровне МДА, T-SH гр., NP-SH гр. и ОЛ эритроцитов, и только пониженный уровень ТФ и ОПА свидетельствует о дисбалансе про- и антиоксидантных параметров клеток этих больных. С другой стороны, умеренная гипертриглицеридемия (кластер 2) сопровождается накоплением в эритроцитах МДА и значительным истощением ОЛ на фоне пониженной ОПА. Практически такие же данные получены при делении больных на группы с выраженной и умеренно выраженной гипертриглицеридемией: когда уровень ТГ не превышает двукратной их концентрации у здоровых лиц, то изучаемые показатели плазмы (за исключением уровня T-SH гр.) практически не отличаются от данных у доноров, в то время как в эритроцитах происходит накопление МДА, истощение ОЛ и значительное падение ОПА и активности КАТ. В то же время у больных со значительным повышением концентрации ТГ в сыворотке пропорционально накапливаются ДК плазмы, а уровень показателей эритроцитов практически не отличается от нормальных, кроме падения содержания ТФ и снижения ОПА.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С одной стороны, хорошо известно, что гипер- и дислипидемия являются маркерами неблагоприятного течения ЗП и что липиды обладают прямым повреждающим воздействием на ткань почек [4, 5]. С другой стороны, наши исследования свидетельствуют в пользу относительной сохранности липидного компонента эритроцитов и состояния ПОЛ в них в условиях гипертриглицеридемии. Выявленный таким образом защитный эффект гипертриглицеридемии на состояние мембран эритроцитов требует дальнейших детальных исследований относительно соотношения в них отдельных фракций липидов.

Таким образом, можно сделать предварительный вывод о том, что при всех вариантах клинического течения ЗП и при принятии мер по борьбе с гипер- и дислипидидемией в практике нефрологических отделений следует помнить о нарушениях антиоксидантного потенциала крови больных и по возможности включать в традиционные схемы препараты, поддерживающие антиоксидантный статус клеток (витамины Е, С, Р; серосодержащие аминокислоты и другие препараты антиоксидантного действия), чтобы поддержать достаточный антиоксидантный потенциал эритроцитов и других клеточных структур организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балашова Т.С., Рудько И.А., Ермоленко В.М. и др. Перекисное окисление липидов как возможный механизм повреждения эритроцитов у больных с хронической почечной недостаточностью в условиях гемодиализа // Тер. арх.—1992.—№ 6.—С. 66—69.

2. Гринштейн Ю.И., Лундина Т.А., Кнубовец Т.Л. и др. Свободнорадикальное окисление и канальцевые дисфункции у больных хронической почечной недостаточностью // Тер. арх.—1991.—№ 6.— С. 62—65.

3. Дмитриев Л.Ф. Биохимические аспекты атерогенеза: роль антиоксидантов // Тер. арх.—1995.—Т. 67, № 12.—С. 73—77.

4. Колмакова Е.В. Липиды плазмы у больных хроническим гломерулонефритом // Урол. и нефрол.—1990.—№ 1.—С. 16—19.

5. Неверов Н.И., Иванов А.А. Гиперлипидемия и гломерулосклероз при нефропатиях: клинико-морфологические сопоставления // Тер. арх.—1994.—№ 7.—С. 73—76.

6. Смирнов А.В., Кузнецов А.С. Атерогенез и уремия // IV конференция нефрологов Северо-Запада России «Проблемы ХПН» (27—29 апреля 1995 г.): Материалы.—СПб., 1995.—С. 81—86.

7. Тугушева Ф.А., Куликова А.И., Зубина И.М. Особенности перекисного окисления липидов в доазотемической стадии хронического гломерулонефрита // Вопр. мед. химии.—1993.—№ 3.—С. 18—21.

8. Тугушева Ф.А., Куликова А.И., Зубина И.М., Сазонец Г.И. Взаимосвязь липоперокисдации с клинико-лабораторными показателями у больных с заболеваниями почек на фоне нефротического синдрома // Рабочее совещание нефрологов Северо-Запада России «Нефрология»: Сборник материалов.—СПб., 1996.—С. 48—52.

9. Шишкин А.Н., Шулутко Б.И., Будай О.П., Колмакова Е.В. Клиническая, иммунологическая и морфологическая характеристика нефротического синдрома // Клин. мед.—1990.—№ 6.—С. 58—61.

Поступила в редакцию 04.03.98 г.