

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 616.61-002.27-07:616-018.74:577.112.386.2:542.943-92'78]-053.2

Конюх Елена Анатольевна

**ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЭНДОТЕЛИЯ,
УРОВЕНЬ ГОМОЦИСТЕИНА И ПРООКСИДАНТНО-
АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС У ДЕТЕЙ
С ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ**

(клинико-экспериментальное исследование)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук
по специальности 14.01.08 – педиатрия

Гродно, 2013

Работа выполнена в учреждении образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Парамонова Нэлла Сергеевна**,
доктор медицинских наук, профессор, заведующий
2-й кафедрой детских болезней УО «Гродненский
государственный медицинский университет»

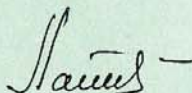
Официальные оппоненты: **Лялик Сергей Александрович**,
доктор медицинских наук, профессор, заведующий
кафедрой клинической лабораторной диагностики
и иммунологии УО «Гродненский
государственный медицинский университет»
Козыро Инна Александровна,
кандидат медицинских наук, доцент 1-й кафедры
детских болезней УО «Белорусский
государственный медицинский университет»

Оппонирующая
организация: ГУ «Республиканский научно-практический центр
«Мать и дитя»

Защита состоится 25 апреля 2013 г. в 12.00 часов на заседании совета по защите диссертаций К 03.17.01 при УО «Гродненский государственный медицинский университет» по адресу 230009, г. Гродно, ул. Горького, 80; тел. (8-0152)722504, e-mail: ped2@grsmu.by.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Гродненский государственный медицинский университет»
Автореферат разослан «19» марта 2013 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук, доцент



Т.А. Лашковская



ВВЕДЕНИЕ

0000021419 времени гломерулонефрит (ГН) у детей остается медицинской и социальной проблемой в силу неуклонного прогрессирования при хроническом течении [Игнатова М.С., 2011; Лучанинова В.Н., 2012], являясь одной из причин острой и хронической почечной недостаточности уже в детском возрасте [Craig R.G., 2008; Байко С.В., Сукало А.В., 2011; Приходина Л.С., 2011; Назаров А.В. и др., 2012] и летальности при развитии осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы [Shishehbor M.H. et al., 2008; Inrig J.K. et al., 2011].

При вовлечении в патологический процесс сосудистого русла мишенью для факторов повреждения выступает его внутренняя выстилка – эндотелий [Маргиева Т.В. и др., 2009; Сивцева Е.М., 2011; Luksha L. et al., 2012]. Функциональная активность эндотелия зависит от ряда факторов, таких как оксид азота [Baylis C., 2008; Straub A.C. et al., 2012], гомоцистеин (ГЦ) и его метаболиты [Лебеденкова М.В., 2009; Williams K.T., 2010; He L. et al., 2010; Cheng Z. et al., 2011; Nahar A. et al., 2011], состояние процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты (АОЗ) [Тугушева Ф.А., 2009; Strakova J., 2010; Конюшевская А.А., 2011].

В силу важности приведенных доводов комплексное изучение функционального состояния эндотелия, а также факторов, его определяющих, при ГН остается особо актуальным. Исследование процесса ПОЛ, АОЗ, уровня ГЦ и состояния эндотелия, несомненно, будет способствовать ранней диагностике сосудистых нарушений при остром и хроническом течении ГН, а также выбору патогенетически обоснованной терапии.

В настоящее время ведется поиск лекарственных средств (ЛС), способных эффективно воздействовать на функциональные и морфологические изменения сосудистой стенки [Fellah H. et al., 2011; Корокин М.В., 2012], однако вопросы медикаментозной коррекции при ГН, особенно в детском возрасте, остаются все еще открытыми.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами

Диссертационное исследование выполнено в рамках НИР 2-й кафедры детских болезней УО «Гродненский государственный медицинский университет» (УО «ГрГМУ») «Клинико-лабораторные маркеры ранних нарушений состояния здоровья у детей с соматической патологией», государственный регистрационный № 20100959, сроки исполнения: 01.01.2010–31.12.2014 гг.

Личный вклад соискателя

Настоящая работа является самостоятельным научным исследованием. Диссертантом лично выполнены патентно-информационный поиск по изучаемой проблеме, разработка протокола обследования пациента, выкопировка данных из медицинской документации, формирование групп, создание базы данных на бумажных носителях и в электронном варианте, статистическая обработка полученных данных. Автором лично проведено исследование эндотелий-зависимой дилатации сосудов у детей методом реографии с использованием теста с реактивной гиперемией, выполнен анализ полученных результатов. Совместно с научным руководителем осуществлялись планирование, организация и проведение всех этапов работы, оценка и интерпретация результатов исследования [2, 3, 4, 8, 10, 11]. Клиническое обследование детей, динамическое наблюдение за ними осуществлялось при участии сотрудников 2-й кафедры детских болезней УО «ГрГМУ», 5-го педиатрического отделения УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница» [1, 12, 22]. Совместно с сотрудниками научно-исследовательской части УО «ГрГМУ» (руководитель – к.м.н., доцент М.Н.Курбат) исследованы показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты, проведено изучение уровней гомоцистеина, цистеина и глутатиона плазмы крови [4, 8, 9, 16, 17, 23, 25, 27, 30, 31]. Экспериментальное исследование проведено при участии сотрудников кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «ГрГМУ» (зав. кафедрой – д.м.н., профессор С.М.Зиматкин) [6, 9, 30, 31]. Личный вклад соискателя в диссертационное исследование составляет до 80%, в подготовку докладов и публикаций в соавторстве – до 70%.

Апробация результатов диссертации

Результаты исследования доложены на Республиканской конференции с международным участием «Актуальные теоретические и прикладные аспекты патофизиологии» (Гродно, 2010); Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии, детской хирургии и травматологии», посвященной 50-летию УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница» (Гродно, 2011); Республиканской научно-практической конференции «Кислород и свободные радикалы» (Гродно, 2012); VII Международной научно-практической конференции «Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования» (Витебск, 2012); Республиканской научно-практической конференции, посвященной 50-летию кафедры инфекционных болезней УО «ГрГМУ» «Актуальные вопросы инфектологии» (Гродно, 2012); ежегодных итоговых

конференциях УО «ГрГМУ» «Актуальные проблемы медицины» (Гродно, 2009, 2010, 2011).

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертации опубликовано 29 научных работ: 9 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РБ для публикации научных работ (4,8 авторских листа), 11 статей в рецензируемых сборниках научных работ (1,9 авторских листа), 9 тезисов докладов (0,6 авторских листа). Общий объем опубликованных материалов – 7,3 авторских листа, из них в моноавторстве – 1,8 авторских листа.

Получены 2 приоритетные справки от 21.03.2012 г.: № а20111827 на патент «Средство для нефропротекции при экспериментальном гломерулонефрите» и № а20111828 на патент «Средство для коррекции морфологических изменений при гломерулонефрите».

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на русском языке на 134 страницах машинописного текста и состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, главы с описанием объектов и методов исследования, 4 глав собственных исследований, заключения (основных научных результатов, практических рекомендаций) и библиографического указателя, который включает 245 источников (русскоязычных – 69, иностранных – 176), а также 29 собственных публикаций. Работа иллюстрирована 31 рисунком, 19 таблицами и приложением (14 страниц).

Логика построения диссертации основана на гипотезе о том, что при остром и хроническом гломерулонефрите у детей отмечается дисбаланс между повреждающими факторами (повышение уровня стабильных метаболитов оксида азота, содержания гомоцистеина, цистеина и показателей перекисного окисления липидов в плазме крови) и состоянием антиоксидантной защиты организма (снижение α -токоферола, повышение глутатиона в плазме крови). В главах приведены результаты собственных исследований, подтверждающие эти изменения. Дана оценка эффективности антиоксидантной терапии ЛС «Ацецекс-Фарма» и «Вита-мелатонин» при экспериментальном гломерулонефрите.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объект, материал и методы исследования

Под наблюдением находились 78 детей с ГН, составивших основную группу, которые проходили обследование и лечение в 5-м педиатрическом отделении УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница». 10 условно здоровых детей, госпитализированных в отделение плановой хирургии для оперативного вмешательства (грыжеисечение), были отнесены в группу сравнения.

Клиническая форма заболевания у пациентов основной группы диагностировалась в соответствии с Классификацией первичного гломерулонефрита у детей (1976 г., г. Винница), морфологический вариант – согласно рекомендациям Международного Общества Нефрологов (1999 г.).

Пациенты основной группы были разделены на две подгруппы.

Подгруппа I (n=41) – дети с острым гломерулонефритом (ОГН). Мальчиков было 80,5% (33 ребенка), девочек – 19,5% (8 детей). Возраст пациентов – 13,9 (11,8–15,4) лет. В зависимости от клинического варианта заболевания обследуемые распределились следующим образом: с нефритическим синдромом – 24 человека (58,5%), с изолированным мочевым синдромом – 14 (34,2%), с нефротическим синдромом – 3 (7,3%). В период начальных проявлений было обследовано 36 детей (87,8%), в период обратного развития – 3 (7,3%), в период перехода в хроническую форму (нефробиопсия не проводилась в связи с временным отказом родителей от исследования) – 2 человека (4,9%). Сохраненная функция почек диагностирована у 32 пациентов (78,1%), нарушение парциальных функций – у 9 (21,9%). Длительность заболевания на момент поступления в стационар составила 0,5 (0,25–2,0) месяца.

Подгруппа II (n=37) – пациенты с хроническим гломерулонефритом (ХГН). Мальчиков было 59,5% (22 ребенка), девочек – 40,5% (15 человек). Возраст детей составил 14,1 (11,3–15,6) лет. При клинико-лабораторном обследовании диагностированы следующие варианты заболевания: смешанная форма – у 4 детей (10,8%), гематурическая форма – у 20 (54,1%), нефротическая форма – у 13 (35,1%). В стадию обострения в стационар поступили 27 человек (72,9%), в стадию неполной клинико-лабораторной ремиссии – 7 (18,9%), полной клинико-лабораторной ремиссии – 3 ребенка (8,2%). Нарушение парциальных функций почек отмечалось у 5 обследуемых (13,5%), у 32 (86,5%) диагностировано сохранение функций почек. Длительность заболевания на момент госпитализации составила 18,0 (6,0–96,0) месяцев.

Пациенты в подгруппах и группе сравнения были сопоставимы по возрасту и полу ($p > 0,05$).

Всем детям выполнены клинические, лабораторные и инструментальные исследования, а также проведено лечение, что предусмотрено «Отраслевыми стандартами обследования и лечения детей с патологией мочевой системы в амбулаторно-поликлинических и стационарных условиях» (Приказ № 156 МЗ РБ от 30.09.2003). В рамках цели и задач данной диссертации пациентам основной группы и группы сравнения дополнительно выполняли специальные исследования.

Определение стабильных метаболитов оксида азота (NO_x) в плазме крови проводилось с помощью реактива Грисса [Green L.C., Wagner D.A., Glogovski J., 1982]. Содержание гомоцистеина (ГЦ), цистеина (ЦТ) и глутатиона (ГТ) в плазме крови определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [Наумов А.В., Дорошенко Е.М., 2010]. Оценку состояния процесса ПОЛ проводили по уровню диеновых конъюгатов (ДК) крови, определяемому по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока, а также по концентрации малонового диальдегида (МДА) крови по реакции его взаимодействия с 2'-тиобарбитуровой кислотой спектрофотометрически [Камышников В.С., 2002]. Состояние АОЗ оценивали по содержанию α -токоферола (α -ТФ) в плазме и эритроцитах крови, основанному на определении интенсивности флуоресценции гептанового экстракта [Taylor S.L., Lamden M.P., Tappel A.L., 1976], активности каталазы эритроцитов, устанавливаемой спектрофотометрически [Корольюк М.А., 1988], уровню ГТ. Исследование функциональной активности эндотелия проводили реовазографически с использованием пробы с реактивной гиперемией и оценкой максимального прироста пульсового кровотока в предплечье [Вильчук К.У., Максимович Н.А., Максимович Н.Е., 2001].

Экспериментальное исследование проведено на 37 белых беспородных неполовозрелых крысах обоего пола массой 52–64 г. Исследуемые животные были разделены на 5 групп: 1-я группа (n=7) – интактные крысы, 2–5-я группы – экспериментальные животные (n=30). У животных экспериментальных групп моделировали иммунокомплексный гломерулонефрит типа нефрита Неуманн [Сукало А.В., 1995]. С целью изучения лечебного эффекта мелатонина (МТ) и ацетилцистеина (АЦЦ) эти вещества вводились в питьевой рацион животных с первых суток эксперимента. 1-я группа (n=7) – интактные крысы на стандартном питьевом рационе. 2-я группа (n=7) – контрольная группа животных с экспериментальным гломерулонефритом (ЭГ), получавших питьевую воду. 3-я группа (n=8) – ЭГ, в воде для питья растворяли ЛС «Витамелатонин» (действующее вещество – мелатонин) из расчета 10 мг/100 мл воды [Nava M. et al., 2003]. 4-я группа (n=8) – ЭГ, в воде для питья растворяли ЛС «Ацецекс-Фарма» (действующее вещество – ацетилцистеин) из расчета 150 мг/кг массы тела животного [Pinto C.F., Watanabe M., Vattimo Mde F., 2008].

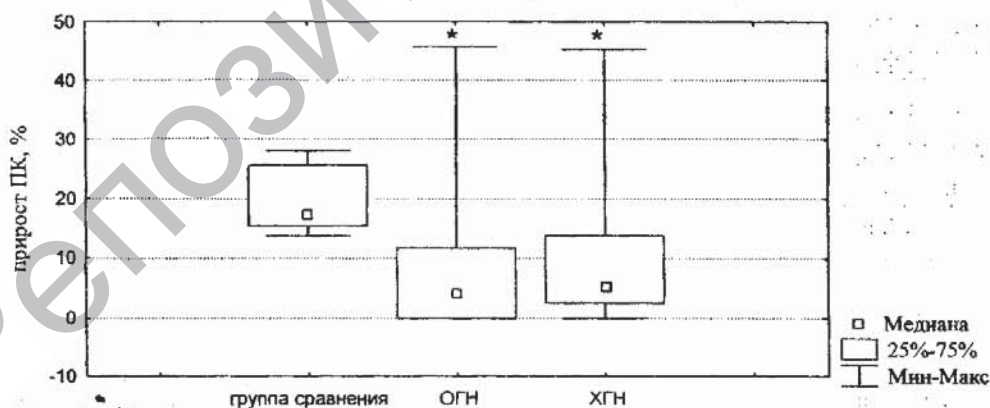
5-я группа (n=7) – ЭГ, в качестве питья животные получали питьевую воду с добавлением «Вита-мелатонина» (10 мг/100 мл) + «Ацецекс-Фарма» (150 мг/кг). Контрольной точкой наблюдения выбраны 25-е сутки опыта. После декапитации у животных производили забор крови и определяли уровень ГЦ, ЦТ и ГТ по вышеописанной методике. Правая почка забиралась после вскрытия брюшной полости для морфологического исследования.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных статистических программ STATISTICA 6.0 для Windows методами параметрической (t-критерий Стьюдента) и непараметрической (критерии Краскела–Уоллиса, Манна–Уитни, Вилкоксона, χ^2 , коэффициент ранговой корреляции Спирмена) статистики. Данные представлены в виде $M \pm \sigma$, где M – среднее значение, σ – среднее квадратичное отклонение, при нормальном распределении величин. В случае отсутствия нормального распределения – в виде Me (25–75), где Me – медиана, (25–75) – интерквартильный размах.

Результаты собственных исследований

Сравнительная характеристика функционального состояния эндотелия у детей с острым и хроническим гломерулонефритом

При исследовании эндотелий-зависимой вазодилатации установлено достоверное снижение прироста пульсового кровотока (ΔPK_{\max}) у пациентов как при остром (3,9 (0–11,5)%, $p=0,01$), так и при хроническом течении заболевания (5,3 (2,6–13,9)%, $p=0,02$) по сравнению с условно здоровыми детьми (17,4 (15,4–25,6)%) (рисунок 1).

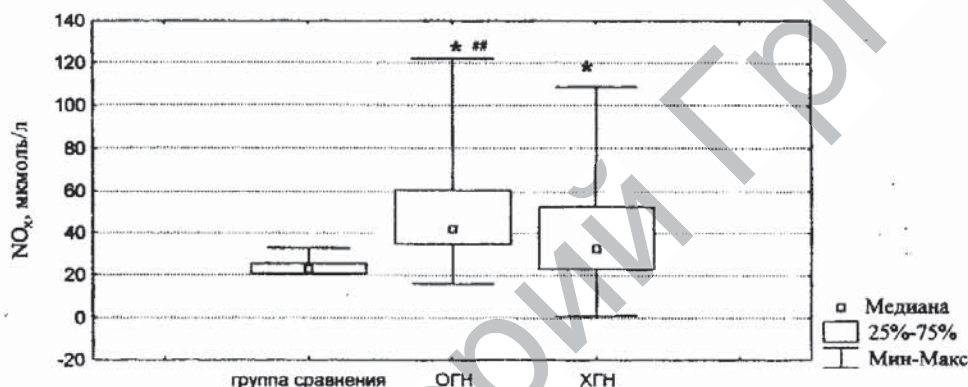


* – $p < 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения

Рисунок 1 – Прирост пульсового кровотока по результатам пробы с реактивной гиперемией у пациентов с острым, хроническим гломерулонефритом и условно здоровых детей

Дисфункция эндотелия (ДЭ) ($\Delta\text{ПК}_{\text{макс}} < 10\%$) диагностирована у 72,2% детей с ОГН ($\Delta\text{ПК}_{\text{макс}} = 2,2$ (0–4,8)%) и у 60,6% пациентов с ХГН ($\Delta\text{ПК}_{\text{макс}} = 2,9$ (0,5–4,4)%). В подгруппе I признаки ДЭ при нефритическом синдроме выявлены у 77,3% пациентов, изолированном мочевом – у 53,8%, нефротическом – у 100%; в подгруппе II при смешанной форме – у 60%, гематурической – у 63,2%, нефротической – у 60% детей.

Установлено, что концентрация NO_x достоверно выше при остром (41,8 (34,6–60,5) мкмоль/л, $p=0,00007$) и хроническом (32,7 (23,0–52,5) мкмоль/л, $p=0,03$) ГН по отношению к группе условно здоровых детей (23,1 (20,8–28,1) мкмоль/л). При ОГН содержание NO_x статистически значимо выше, чем при ХГН ($p=0,03$) (рисунок 2).



* – значимость различий при сопоставлении с группой сравнения

– значимость различий при сопоставлении в подгруппах с ОГН и ХГН

Рисунок 2 – Концентрация NO_x у пациентов с острым, хроническим течением заболевания и детей из группы сравнения

При ОГН не установлено изменения содержания NO_x в зависимости от клинического варианта течения заболевания ($p > 0,05$). У детей с гематурической формой ХГН концентрация NO_x достоверно выше (33,6 (26,0–57,5) мкмоль/л), чем у пациентов со смешанным вариантом (22,0 (19,0–23,7) мкмоль/л, $p=0,03$).

Как при ОГН, так и при ХГН не выявлено зависимости от длительности заболевания $\Delta\text{ПК}_{\text{макс}}$ ($p=0,7$ и $p=0,8$, соответственно) и содержания NO_x в плазме крови ($p=0,2$ и $p=0,4$, соответственно).

Анализ взаимосвязи содержания NO_x и $\Delta\text{ПК}_{\text{макс}}$ показал отсутствие достоверных различий уровня стабильных метаболитов NO при ДЭ ($p > 0,05$) в обеих подгруппах пациентов. При сохранении функциональной активности эндотелия концентрация NO_x при ХГН была достоверно ниже (31,8 (24,4–44,5) мкмоль/л), чем при ОГН (45,9 (37,2–66,0) мкмоль/л, $p=0,03$).

У пациентов с ОГН уровень NO_x достоверно выше при незначительной степени ДЭ, чем при умеренной ($p=0,02$) и выраженной ($p=0,04$). У детей с ХГН статистически значимого изменения содержания NO_x в зависимости от степени ДЭ не установлено ($p>0,05$) (таблица 1).

Таблица 1 – Содержание NO_x в плазме крови в зависимости от степени дисфункции эндотелия у детей с острым и хроническим гломерулонефритом

Показатель	Незначительная ДЭ	Умеренная ДЭ	Выраженная ДЭ	Группа сравнения
Содержание NO_x при ОГН, мкмоль/л	n=5 66,0 (54,2–80,0)*.#	n=9 35,5 (32,6–39,2)*.**	n=7 37,2 (30,0–50,7)*.***	n=10 23,1 (20,8–28,1)
Содержание NO_x при ХГН, мкмоль/л	n=5 30,0 (25,8–48,1)*.#	n=9 48,5 (19,0–61,8)*	n=6 23,5 (15,0–52,5)*	

Примечания:

1. * $p<0,05$ по отношению к группе сравнения
2. ** $p<0,05$ по отношению к группе с незначительной ДЭ
3. # $p=0,03$ при сравнении между подгруппами

Путем корреляционного анализа при остром течении заболевания установлена взаимосвязь между $\Delta\text{ПК}_{\text{макс}}$ и жалобами на головную боль при поступлении пациента в стационар ($R=-0,33$, $p=0,04$), между концентрацией NO_x плазмы крови и наличием стрептодермии ($R=0,35$, $p=0,03$) и эритроцитурии ($R=0,35$, $p=0,04$). У детей с ХГН выявлена связь $\Delta\text{ПК}_{\text{макс}}$ с уровнем креатинина крови ($R=-0,64$, $p=0,01$), АСЛО ($R=-0,44$, $p=0,02$) и склеротическими изменениями почечной ткани ($R=-0,53$, $p=0,04$), а также содержания NO_x плазмы крови и уровнями суточной протеинурии ($R=-0,40$, $p=0,02$) и систолического артериального давления ($R=-0,42$, $p=0,01$).

Контроль окклюзионной пробы при выписке пациентов из стационара показал статистически значимое повышение $\Delta\text{ПК}_{\text{макс}}$ по сравнению с исходным уровнем при ОГН (с 3,9 (0–11,5)%) до 11,4 (8,1–19,1)%, $p=0,0007$) и ХГН (с 5,3 (2,6–13,9)%) до 12,8 (6,8–24,7)%, $p=0,01$). Содержание NO_x на фоне стандартной терапии у пациентов с ОГН несколько снизилось с 41,8 (34,6–60,5) мкмоль/л до 37,2 (31,8–53,3) мкмоль/л, однако статистически значимого улучшения не отмечалось ($p=0,2$). В подгруппе II его содержание практически не изменилось – с 32,7 (23,0–52,5) мкмоль/л до 32,9 (23,0–38,6) мкмоль/л ($p=0,6$).

Уровень гомоцистеина и цистеина плазмы крови у детей с гломерулонефритом

Установлено, что содержание ГЦ в плазме крови у пациентов с ОГН (9,5 (8,0–16,9) мкмоль/л, $p=0,006$) и ХГН (8,9 (6,9–13,3) мкмоль/л, $p=0,01$) достоверно выше, чем у детей из группы сравнения (5,8 (5,2–6,7) мкмоль/л). Статистически значимых различий уровня ГЦ при ОГН и ХГН не выявлено ($p=0,5$).

Концентрация ЦТ также выше при ОГН (269,7 (232,9–296,8) мкмоль/л, $p=0,002$) и ХГН (245,2 (210,4–284,1) мкмоль/л, $p=0,04$) при сравнении с аналогичным показателем у условно здоровых детей (155,5 (142,8–186,7) мкмоль/л), но без достоверных различий при сравнении между подгруппами I и II ($p=0,2$).

В обеих подгруппах пациентов содержание ГЦ и ЦТ не зависело от клинического варианта и периода заболевания ($p>0,05$).

При анализе корреляционных связей у пациентов с ОГН установлена взаимосвязь содержания ГЦ с NO_x плазмы крови ($R=-0,52$, $p=0,01$), уровнем креатинина крови ($R=0,43$, $p=0,04$), СРБ ($R=0,66$, $p=0,01$), ЦТ ($R=0,57$, $p=0,006$), АЧТВ ($R=0,52$, $p=0,01$) и МНО ($R=0,56$, $p=0,007$). При ХГН выявлена обратная зависимость концентрации ГЦ и признаков ДЭ, определяемых реовазографически ($R=-0,54$, $p=0,03$), а также взаимосвязь с содержанием ЦТ крови ($R=0,79$, $p=0,00003$) и длительностью АЧТВ ($R=0,58$, $p=0,02$).

На фоне проводимой терапии концентрация ГЦ у пациентов подгруппы I к моменту выписки из стационара составила 8,5 (7,6–10,3) мкмоль/л, в подгруппе II – 9,6 (7,5–12,8) мкмоль/л, однако статистически значимых различий по сравнению с его уровнем при поступлении не выявлено ($p=0,06$ и $p=0,3$, соответственно).

Исследование уровня ЦТ в плазме крови в динамике показало, что при ОГН его содержание составляло при выписке 253,3 (205,0–277,4) мкмоль/л, у детей с ХГН – 286,0 (206,8–358,6) мкмоль/л; при статистическом анализе достоверных различий с исходными показателями не установлено ($p=0,2$ и $p=0,6$, соответственно).

Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты при гломерулонефрите у детей

При исследовании ПОЛ определено, что уровень ДК в эритроцитах крови при остром и хроническом течении заболевания (8,5 (8,2–18,2) Ед/мл и 7,4 (3,6–22,0) Ед/мл, соответственно) достоверно выше, чем в группе условно здоровых детей (2,4 (1,8–3,6) Ед/мл, $p=0,0006$ и $p=0,02$, соответственно). Концентрация ДК в плазме крови при хроническом процессе (1,8 (1,2–2,4) Ед/мл) статистически значимо выше, чем в группе сравнения (1,3 (1,1–1,5) Ед/мл,

$p=0,02$). Содержание МДА в эритроцитах крови практически не отличалось от результатов, полученных в группе условно здоровых детей (9,4 (7,8–10,3) мкмоль/л) и составляло 11,3 (7,6–23,7) мкмоль/л при ОГН и 11,8 (7,6–18,9) мкмоль/л при ХГН без достоверных различий при сравнении в подгруппах ($p>0,05$). Установлено, что уровень МДА в плазме крови при остром течении заболевания (1,7 (1,2–4,2) мкмоль/л) достоверно выше, чем у детей из группы сравнения (1,3 (1,0–1,4) мкмоль/л, $p=0,04$).

Оценка состояния АОЗ показала, что содержание α -ТФ в эритроцитах крови при ОГН (0,5 (0,3–1,0) мкмоль/л) достоверно ниже как по отношению к условно здоровым детям (1,0 (0,9–1,3) мкмоль/л, $p=0,04$), так и при сравнении с пациентами с ХГН (1,2 (0,7–1,5) мкмоль/л, $p=0,02$), у которых уровень α -ТФ практически не отличался от такового у детей из группы сравнения ($p=0,5$). В плазме крови выявлено снижение содержания α -ТФ при остром процессе (6,1 (1,5–10,1) мкмоль/л, $p=0,03$) и отсутствие различий при хроническом течении заболевания (9,4 (1,9–10,0) мкмоль/л, $p=0,2$) при сравнении с условно здоровыми детьми (10,0 (9,0–11,0) мкмоль/л). Установлено достоверное повышение концентрации ГТ в плазме крови в подгруппах I и II (7,2 (4,8–9,6) мкмоль/л, $p=0,0001$ и 6,2 (5,2–9,9) мкмоль/л, $p=0,00009$, соответственно) при сопоставлении с группой сравнения (2,2 (1,4–3,2) мкмоль/л).

При ОГН не выявлено связи между изменениями показателей прооксидантно-антиоксидантной системы и функциональным состоянием эндотелия ($p>0,05$). При ХГН уровень ДК в эритроцитах ниже у детей с ДЭ, чем у пациентов с сохраненной функциональной активностью эндотелия ($p=0,02$). В подгруппе I концентрация МДА в эритроцитах была достоверно ниже у лиц с содержанием ГЦ плазмы крови > 10 мкмоль/л, чем у пациентов с уровнем ГЦ < 10 мкмоль/л ($p=0,02$).

Проведена сравнительная оценка содержания продуктов ПОЛ в крови пациентов в динамике. Установлено, что у детей с ОГН и ХГН при выписке из стационара уровни ДК и МДА в плазме крови и эритроцитах статистически значимо не отличались от данных, полученных при поступлении ($p>0,05$).

На фоне проводимого лечения содержание α -ТФ в эритроцитах крови при ОГН достоверно повысилось (с 0,5 (0,3–1,0) мкмоль/л до 1,0 (0,7–3,9) мкмоль/л, $p=0,03$). В плазме крови уровень α -ТФ не изменился (с 6,1 (1,5–10,1) мкмоль/л до 4,8 (2,5–7,1) мкмоль/л, $p=0,9$). Не выявлено статистически значимых различий концентрации α -ТФ эритроцитов и плазмы крови при ХГН, а также уровня ГТ плазмы крови и активности каталазы эритроцитов как при остром, так и при хроническом течении заболевания ($p>0,05$).

Оценка эффективности антиоксидантной терапии при экспериментальном гломерулонефрите

При биохимическом исследовании крови установлено, что содержание ЦТ во всех группах животных с ЭГ было ниже, чем в интактной группе. Отмечено также, что уровень ГТ в плазме крови крыс, получавших АЦЦ, достоверно отличался от аналогичного показателя, определяемого в 1-й и 2-й группах (таблица 2).

Таблица 2 – Содержание гомоцистеина, цистеина и глутатиона в плазме крови у экспериментальных животных

Группы животных	Цистеин, мкмоль/л	Гомоцистеин, мкмоль/л	Глутатион, мкмоль/л
1-я группа, интактная	83,8 (82,7–89,4)	1,8 (1,5–2,2)	14,7 (12,5–16,2)
2-я группа, контрольная, ЭГ	56,7 (51,0–66,3)*	1,6 (1,2–1,6)	12,7 (11,4–16,7)
3-я группа, ЭГ+МТ	64,8 (49,8–71,4)*	1,5 (1,2–1,9)	11,9 (9,5–13,5)
4-я группа, ЭГ+АЦЦ	64,9 (57,3–80,5)*	1,3 (1,0–1,4)*	10,1 (9,2–12,6)*, #
5-я группа, ЭГ+МТ+АЦЦ	62,5 (41,5–68,8)*	1,5 (1,3–2,1)	11,1 (6,8–12,4)

Примечания:

- * $p < 0,05$ при сравнении с 1-й группой
- # $p < 0,05$ при сравнении со 2-й группой

Результаты морфологического исследования почечной ткани представлены на рисунке 3.



* – $p < 0,05$ при сравнении с 1-й группой; # – $p < 0,05$ при сравнении со 2-й группой

Рисунок 3 – Соотношение нормальных и поврежденных почечных телец в группах экспериментальных животных

При анализе данных гистологического исследования почечной ткани установлено, что количество нормальных почечных телец в контрольной группе было достоверно ниже, а число нефронов с разной степенью повреждения, в том числе сильно поврежденных и погибших, – значимо выше, чем у интактных животных ($p < 0,05$). При экспериментальном гломерулонефрите у крыс, получавших «Вита-мелатонин» и «Ацецекс-Фарма» (3-, 4- и 5-я группы), по сравнению с животными 2-й (контрольной) группы морфологически определялось достоверно большее количество нормальных и умеренно поврежденных почечных телец, число же сильно поврежденных и погибших было меньшим ($p < 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Дана характеристика состояния эндотелий-зависимой вазодилатации у пациентов с ОГН и ХГН: установлено снижение максимального прироста пульсового кровотока при ОГН ($\Delta\text{ПК}_{\text{макс}}$ 3,9 (0–11,5)%, $p=0,01$) и ХГН ($\Delta\text{ПК}_{\text{макс}}$ 5,3 (2,6–13,9)%, $p=0,02$), что указывает на нарушение функциональной активности эндотелия сосудов. Дисфункция эндотелия диагностирована у 72,2% больных с ОГН: у 53,8% детей при изолированном мочевом синдроме, у 77,3% – при нефритическом, у 100% – при нефротическом. При ХГН признаки дисфункции эндотелия выявлены у 60% детей при всех клинических вариантах заболевания.

Содержание NO_x при ОГН и ХГН было выше, чем у детей из группы сравнения ($p=0,00007$ и $p=0,03$, соответственно). У пациентов с ОГН и ДЭ умеренной и выраженной степени уровень NO_x был достоверно ниже, чем на фоне незначительной степени повреждения эндотелиальной выстилки сосудов ($p < 0,05$). При ХГН концентрация NO_x не зависела от функционального состояния эндотелия.

Установлена связь $\Delta\text{ПК}_{\text{макс}}$ с наличием гипертензионного синдрома при поступлении пациента в стационар ($R=-0,33$, $p=0,04$) при остром течении заболевания; с уровнем креатинина крови ($R=-0,64$, $p=0,01$), АСЛО ($R=-0,44$, $p=0,02$) и склеротическими изменениями почечной ткани ($R=-0,53$, $p=0,04$) при хроническом процессе. Выявлены корреляционные взаимосвязи между уровнем NO_x плазмы крови и наличием стрептодермии ($R=0,35$, $p=0,03$) и эритроцитурии ($R=0,35$, $p=0,04$) при ОГН, а также между содержанием NO_x и уровнями суточной протеинурии ($R=-0,40$, $p=0,02$) и систолического артериального давления ($R=-0,42$, $p=0,01$) при ХГН, что подтверждает роль функционального состояния эндотелия в патогенезе ГН [2, 3, 10, 14, 15, 20].

2. У пациентов с острым и хроническим течением ГН в сравнении с условно здоровыми детьми отмечается повышение уровня ГЦ в плазме крови до 9,5 (8,0–16,9) мкмоль/л при ОГН и до 8,9 (6,9–13,3) мкмоль/л при ХГН ($p=0,006$ и $p=0,01$, соответственно), ЦТ до 269,7 (232,9–296,8) мкмоль/л при ОГН и до 245,2 (210,4–284,1) мкмоль/л при ХГН ($p=0,002$ и $p=0,04$, соответственно), что отражает участие ГЦ и ЦТ в патогенезе при данной патологии. При остром течении заболевания выявлена корреляционная взаимосвязь содержания ГЦ с уровнем NO_x ($R=-0,52$, $p=0,01$), креатинина крови ($R=0,43$, $p=0,04$), СРБ ($R=0,66$, $p=0,01$), ЦТ ($R=0,57$, $p=0,006$), АЧТВ ($R=0,52$, $p=0,01$) и МНО ($R=0,56$, $p=0,007$). При ХГН установлена связь уровня ГЦ с концентрацией ЦТ крови ($R=0,79$, $p=0,00003$), длительностью АЧТВ ($R=0,58$, $p=0,02$) и $\Delta\text{ПК}_{\text{макс}}$ ($R=-0,54$, $p=0,03$), что доказывает участие ГЦ в развитии сосудистых изменений при ГН [7, 16, 19, 23, 24, 27].

3. Определены особенности функционирования прооксидантно-антиоксидантной системы у детей с ГН. Состояние ПОЛ у пациентов с ОГН характеризуется более высоким уровнем ДК в эритроцитах (8,5 (8,2–18,2) Ед/мл, $p=0,0006$) и МДА в плазме крови (1,7 (1,2–4,2) мкмоль/л, $p=0,04$) по сравнению с условно здоровыми детьми. При ХГН концентрация ДК была статистически значимо выше как в эритроцитах (7,4 (3,6–22,0) Ед/мл, $p=0,02$), так и в плазме крови (1,8 (1,2–2,4) Ед/мл, $p=0,02$) по отношению к группе сравнения. Активация ПОЛ не сопровождается адекватным ответом со стороны АОЗ: при остром течении заболевания отмечается снижение уровня α -ТФ в эритроцитах (0,5 (0,3–1,0) мкмоль/л, $p=0,04$) и плазме крови (6,1 (1,5–10,1) мкмоль/л, $p=0,03$), повышение уровня ГТ в плазме крови (7,2 (4,8–9,6) мкмоль/л, $p=0,0001$) и отсутствие повышения активности каталазы эритроцитов ($p>0,05$); при хроническом процессе установлено повышение уровня ГТ в плазме крови (6,2 (5,2–9,9) мкмоль/л, $p=0,00009$), в то время как содержание α -ТФ и активность каталазы не отличались от аналогичных показателей у детей из группы сравнения [8, 17, 18, 25, 29].

4. На фоне стандартной терапии у детей с ОГН и ХГН отмечается улучшение функционального состояния эндотелия: $\Delta\text{ПК}_{\text{макс}}$ при обследовании в динамике составлял 11,4 (8,1–19,1)% ($p=0,0007$) при остром течении заболевания и 12,8 (6,8–24,7)% ($p=0,01$) при хроническом процессе. При ОГН выявлена положительная динамика содержания α -ТФ в эритроцитах ($p=0,03$). Установлено, что стандартная терапия ОГН и ХГН у детей не влияет на содержание NO_x , ГЦ, ЦТ, α -ТФ и ГТ в плазме крови, ДК и МДА в эритроцитах и плазме крови, активность каталазы эритроцитов, а также содержание α -ТФ в эритроцитах при хроническом течении заболевания ($p>0,05$), что свидетельствует о сохраняющейся активности факторов повреждения сосудистого эндотелия [7, 8].

5. Доказан положительный эффект антиоксидантной терапии ЛС «Ацецекс-Фарма» и «Вита-мелатонин» при экспериментальном гломерулонефрите. У крыс, получавших ацетилцистеин, уровень ГТ в плазме крови был статистически значимо ниже, чем у животных контрольной группы ($p < 0,05$). При морфологическом исследовании почечной ткани установлено, что как при отдельном приеме мелатонина и ацетилцистеина, так и при комбинированном введении этих антиоксидантов количество погибших и поврежденных почечных телец было достоверно меньшим ($p < 0,05$), а число нормальных нефронов – большим ($p < 0,05$), чем у животных, не получавших терапию [6, 9, 30, 31].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. При обследовании пациентов с ГН необходимо реовазографическое исследование с использованием окклюзионной пробы для диагностики дисфункции эндотелия и выявления детей с возможным развитием склеротических изменений почечной ткани.

2. Детям с ГН показано исследование прооксидантно-антиоксидантного баланса, уровня гомоцистеина, стабильных метаболитов оксида азота с целью раннего выявления интенсификации свободнорадикальных процессов, снижения антиоксидантной защиты, гипергомоцистеинемии и последующей коррекции данных нарушений, что может улучшить течение заболевания.

3. С учетом выявленного положительного действия средств «Вита-мелатонин» и «Ацецекс-Фарма» в условиях экспериментального гломерулонефрита необходимы клинические испытания по применению их в качестве антиоксидантной терапии при ГН. Это даст возможность использовать «Вита-мелатонин» и «Ацецекс-Фарма» в терапевтической практике с целью улучшения клинико-лабораторных проявлений заболевания и уменьшения процессов склерозирования почечной ткани.