

УДК 616.611-002-036.12:616.61-002

Р.О. Бегляров

Состояние системы глутатиона у детей с нефротической формой хронического гломерулонефрита

Азербайджанский медицинский университет, г. Баку, Азербайджанская Республика

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA.2017.5(85):142-146; doi 10.15574/SP.2017.85.142

Цель — изучение уровня глутатиона, активности глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГР) в крови детей с нефротической формой хронического гломерулонефрита (ХГН).

Пациенты и методы. Обследовано 104 ребенка с нефротической формой гломерулонефрита. Средний возраст детей составил $10,18 \pm 4,03$ года. У 46,2% детей определялась стадия ремиссии, у 32,7% — I степень, у 14,4% — II степень, у 6,7% — III степень активности нефротического синдрома. Контрольная группа — 30 детей без ХГН. Применялись клинические, лабораторные и инструментальные методы исследования. Определяли уровень восстановленного глутатиона (GSH), активность ГПО и ГР в плазме крови и эритроцитах.

Результаты. Активность ГР и ГПО в эритроцитах в среднем была снижена на 48,1% ($p < 0,05$) и на 32,1% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контрольными значениями. Уровень GSH на 26,5% ($p < 0,05$) в плазме и на 43,9% ($p < 0,05$) в эритроцитах был ниже уровня соответствующего показателя в контроле. Минимальный уровень параметров глутатионовой системы отмечался при обострении ХГН.

Выводы. У детей с нефротической формой ХГН отмечается изменение показателей системы глутатиона, которое выражается в снижении уровня GSH, ГПО и ГР в плазме и эритроцитах. Наименьшие изменения в состоянии системы глутатиона встречаются у детей в стадии ремиссии заболевания, что, по-видимому, связано с некоторой адаптацией к заболеванию. По мере роста активности патологического процесса состояние адаптации нарушается.

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит, нефротический синдром, дети, восстановленный глутатион, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза.

The glutathione system status in children with nephrotic form of chronic glomerulonephritis

R.A. Begliarov

Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan Republic

Objective. To study the blood levels of glutathione, the glutathione peroxidase (GPO) and glutathione reductase (GH) activity in children with a nephrotic form of chronic glomerulonephritis (CGN).

Material and methods. In total 104 children with a nephrotic form of glomerulonephritis were examined. The average age of children was 10.18 ± 4.03 years. The stage of remission was defined in 46.2% of children, I grade of activity of the nephrotic syndrome in 32.7%, II grade in 14.4%, III grade in 6.7%. The control group comprised 30 children without CGN. Clinical, laboratory and instrumental methods of investigation were used. The level of reduced glutathione (GSH), the activity of GPO and GH in plasma and in red blood cells (RBC) were determined.

Results. The activity of GH and GPO in RBC was reduced on average by 48.1% ($p < 0.05$) and 32.1% ($p < 0.05$), respectively, compared with the control values. The GSH level was lower than the same level in the control group by 26.5% ($p < 0.05$) in plasma and 43.9% ($p < 0.05$) in RBC. The minimum level of the glutathione system parameters was observed in the case of CGN exacerbation.

Conclusions. In children with nephrotic form of CGN, the changes of glutathione system indicators are observed, which is manifested in a decreased levels of GSH, GPO, and GH in plasma and RBC. The slightest changes of the glutathione system status are observed in children with remission of the disease, which is probably due to some adaptation to the disease. As the activity of the pathological process increases, the processes of dysadaptation develop.

Key words: chronic glomerulonephritis, nephrotic syndrome, children, reduced glutathione, glutathione peroxidase, glutathione reductase.

Стан системи глутатіону у дітей з нефротичною формою хронічного гломерулонефриту

Р.О. Бегляров

Азербайджанський медичний університет, м. Баку, Азербайджанська Республіка

Мета — вивчення рівня глутатіону, активності глутатіонпероксидази (ГПО) і глутатіонредуктази (ГР) у крові дітей з нефротичною формою хронічного гломерулонефриту (ХГН).

Пацієнти і методи. Обстежено 104 дитини з нефротичною формою гломерулонефриту. Середній вік дітей склав $10,18 \pm 4,03$ року. У 46,2% дітей визначалася стадія ремісії, у 32,7% — I ступінь, у 14,4% — II ступінь, у 6,7% — III ступінь активності нефротичного синдрому. Контрольна група — 30 дітей без ХГН. Застосовувалися клінічні, лабораторні та інструментальні методи дослідження. Визначали рівень відновленого глутатіону (GSH), активність ГПО та ГР у плазмі крові та еритроцитах.

Результати. Активність ГР та ГПО в еритроцитах у середньому була знижена на 48,1% ($p < 0,05$) і на 32,1% ($p < 0,05$) відповідно порівняно з контрольними значеннями. Рівень GSH на 26,5% ($p < 0,05$) в плазмі та на 43,9% ($p < 0,05$) в еритроцитах був нижчим за рівень відповідного показника у контролі. Мінімальний рівень параметрів глутатінової системи спостерігався при загостренні ХГН.

Висновки. У дітей з нефротичною формою ХГН спостерігаються зміни показників системи глутатіону, що проявляється зниженням рівня GSH, ГПО і ГР у плазмі й еритроцитах. Найменші зміни у стані системи глутатіону спостерігаються у дітей у стадії ремісії захворювання, що, імовірно, пов'язано з деякою адаптацією до захворювання. По мірі збільшення активності патологічного процесу стан адаптації порушується.

Ключові слова: хронічний гломерулонефрит, нефротичний синдром, діти, відновлений глутатіон, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза.

Введение

Гломерулонефрит — одно из тяжелых заболеваний у детей, основу которого, как известно, составляет иммунный воспалительный процесс почек инфекционно-аллергической природы с поражением, в основном, клубочков нефрона. Проблема хронического гломерулонефрита (ХГН) является актуальной в педиатрии, и объясняется это, прежде всего, тяжестью течения заболевания и развитием почечной недостаточности. При ХГН в патологическом процессе задействованы многие органы и системы, нарушения имеют место почти во всех видах метаболизма [4,6,9].

Точных данных о распространенности и частоте гломерулонефрита в литературе нет. Эти показатели варьируют в широком диапазоне и во многом зависят от возраста и пола, климатогеографических особенностей, условий жизни, сенсбилизации организма, от эпидемии острой респираторной инфекции, детских инфекций и других факторов [4,6,9].

Одним из патогенетических звеньев возникновения болезней почек, в том числе ХГН, является повышение интенсивности свободнорадикальных процессов и развитие окислительного стресса. Чрезмерная активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижение уровня антиоксидантов в крови приводит к деструкции клеточных мембран. У детей, из-за еще не сформировавшихся механизмов антиоксидантной защиты, неконтролируемое ПОЛ представляет особую опасность [4,8].

Как известно, одним из природных антиоксидантов является восстановленный глутатион, который считается ведущей молекулой окислительно-восстановительных реакций, поддерживающей общий обмен веществ клетки и регулирующей сигнальные пути [7]. В настоящее время изучается роль глутатиона при патологии печени, респираторных заболеваниях, в токсикологии и т.д. [2]. Сведения о механизмах действия системы глутатиона при ХГН получены в основном благодаря экспериментальным исследованиям.

Цель настоящего исследования состояла в изучении уровня восстановленного глутатиона, активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы в крови у детей с нефротической формой ХГН.

Материал и методы исследования

В исследование было включено 104 ребенка с нефротической формой ХГН, составивших

основную группу, из них мальчиков — 67 (64,4%), девочек — 37 (35,6%). Возраст детей варьировал от 5 до 16 лет (средний возраст — $10,18 \pm 4,03$ года). По возрастным группам больные распределились следующим образом: 5–6 лет — 38 (36,5%), 7–11 лет — 42 (40,4%), 12–15 лет — 24 (23,1%) ребенка.

Контрольную группу составили 30 практически здоровых детей того же возраста (средний возраст — $10,7 \pm 5,11$ года).

Исследование было выполнено в соответствии с принципами Хельсинской Декларации. Протокол исследования был одобрен Локальным этическим комитетом (ЛЭК) учреждения. На проведение исследований было получено информированное согласие родителей детей (или их опекунов).

В работе использовалась классификация гломерулонефрита Г.Н. Сперанского и соавт. (1966) с дополнениями М.С. Игнатовой и Ю.Е. Вельтищева (1989). Степень активности нефротического синдрома оценивалась по модифицированной классификации активности (J.H.H. Ehrich, A. Drukker, 2000).

У 48 (46,2%) детей определялась стадия ремиссии. У 34 (32,7%) детей отмечалась I степень активности ХГН. У 15 (14,4%) детей отмечалась II степень активности ХГН. Активность III степени ХГН с выраженной протеинурией, гипоальбуминемией, отеками отмечалась у 7 (6,7%) пациентов.

У всех обследованных детей уточнялись генеалогический анамнез, наследственная отягощенность по заболеваниям почек и сердечно-сосудистой патологии, особенности течения беременности и родов у матери, анамнез настоящего заболевания. Учитывались сроки начала заболевания, начальные симптомы почечной патологии и данные о перенесенных заболеваниях.

Применялись клинические, лабораторные и инструментальные (УЗИ) методы исследования. Состояние системы глутатиона оценивали по уровню восстановленного глутатиона (GSH), активности глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГР). Уровень GSH определяли по изменению оптической плотности по методике G.L. Ellman [12], активность ГПО — по методу А.Р. Гавриловой [3], ГР — по В.С. Асатиани [1]. Материалом для исследования служили плазма крови и эритроциты.

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием стандартных пакетов программы Statistica version 6,0 (США).

Таблица 1

Показатели системы глутатиона у детей с нефротической формой ХГН

Показатель		Группа	
		Основная (n=104)	Контрольная (n=30)
GSH, нмоль/мл мкмоль/мл	плазма	16,4±2,07	18,1±1,84
	эритроциты	0,93±0,27*	1,55±0,10
ГПО, нмоль/мин на 1 мг белка	эритроциты	4,15±0,82*	7,48±0,47
ГР, нмоль/мин на 1 мг белка	эритроциты	1,08±0,10*	2,12±0,14

Примечание: * – различия между группами статистически достоверны (p<0,05).

Результаты исследования и их обсуждение

Согласно анамнестическим данным, у 29 (27,9%) детей имелась наследственная отягощенность по заболеваниям почек. У 15 (14,4%) детей родители страдали артериальной гипертензией. У 44 (42,3%) детей матери в период беременности перенесли ОРВИ, у 11 (10,5%) матерей беременность осложнилась преэклампсией, у 10 (9,6%) – анемией. Родились недоношенными 7 (6,7%) детей, с асфиксией – 5 (4,8%). Выявлено, что до диагностирования ХГН у большинства детей (78,8%) наблюдались изменения в общем анализе мочи в виде микропротеинурии – у 11,5%, микрогематурии – у 16,3%, оксалурии – у 28,8%, уратурии – у 22,1% пациентов. У 5 (4,8%) обследованных ранее была выявлена пиелоктазия, у 3 (2,9%) – везикоренальный рефлюкс. Хронические инфекционные очаги имелись у 70 (67,3%) детей, из которых у 33 (31,7%) был хронический тонзиллит, у 18 (17,3%) – кариес, у 11 (10,6%) – аденоиды и у 8 (7,7%) детей – ринит. У 49 (47,1%) пациентов отмечались частые ОРВИ, у 6 (5,8%) детей – бронхиты.

Имел сопутствующую патологию 51 (49,0%) ребенок. Заболеваниями желудочно-кишечного тракта страдали 19 (18,3%), аллергическими заболеваниями – 20 (19,2%) пациентов.

В 7,7% случаев (8 детей) выявлен пролапс митрального клапана, в 3,8% случаев (4 пациента) – бронхиальная астма. При обследовании у 44 (42,3%) детей наблюдались отеки, у 50 (48,1%) – повышенное артериальное давление. По данным УЗИ уплотнение почечной паренхимы отмечалось у 56 (53,8%), увеличение объема почек – у 48 (46,2%) пациентов.

Результаты исследования показателей глутатионовой системы у детей с ХГН отражены в таблице 1. Концентрация GSH в плазме крови больных детей была снижена незначительно – на 9,4%, а в эритроцитах разница составила 40,0% (p<0,05) по сравнению с контролем. Ферментативная активность системы глутатиона при ХГН также была снижена. Разница активности ГПО в эритроцитах у детей с ХГН и здоровых детей составила 44,5% (p<0,05). Выявлялось также достоверное снижение активности ГР в эритроцитах детей основной группы по сравнению с контрольной группой – на 49,1% (p<0,05). Таким образом, у детей с ХГН наблюдалось выраженное снижение активности ГР.

Содержание параметров глутатионовой системы у больных с различными степенями активности нефротического синдрома снижалось по мере возрастания тяжести заболевания (табл. 2).

По нашим данным, содержание GSH в плазме крови у больных детей при различной активности заболевания не имело достоверных различий относительно контрольных значений. В то же время средний уровень этого показателя в эритроцитах у пациентов в стадии ремиссии был ниже контрольной величины на 14,8%, у детей с I, II, III степенями активности – на 24,5% (p<0,05), 29,0% (p<0,05) и на 37,4% (p<0,05) соответственно.

Достоверное снижение активности ГПО в эритроцитах выявлено у пациентов со II и III

Таблица 2

Уровень восстановленного глутатиона и активность глутатионовых ферментов у детей с ХГН и нефротическим синдромом различной степени

Показатель		Дети в стадии ремиссии (n=48)	Дети с ХГН и нефротическим синдромом I ст. (n=34)	Дети с ХГН и нефротическим синдромом II ст. (n=15)	Дети с ХГН и нефротическим синдромом III ст. (n=7)	Контрольная группа (n=30)
GSH, нмоль/мл мкмоль/мл	плазма	17,0±2,08	16,8±2,10	16,2±1,14	16,0±1,0	18,1±1,84
	эритроциты	1,32±0,44	1,17±0,51*	1,10±0,33*	0,97±0,18*	1,55±0,10
ГПО, нмоль/мин на 1 мг белка	эритроциты	6,22±1,06	5,88±0,78	4,63±0,90*	4,06±0,42*	7,48±0,47
ГР, нмоль/мин на 1 мг белка	эритроциты	1,37±0,36	1,30±0,40	1,11±0,20*	0,99±0,01*	2,12±0,14

Примечание: * – статистическая достоверность различий с контрольной группой (p<0,05).

степенью активности патологического процесса — на 38,1% ($p < 0,05$) и 45,7% ($p < 0,05$) соответственно. Анализ уровня ГР в эритроцитах обследованных пациентов показал ее значительное снижение у детей со II и III степенью активности процесса.

Таким образом, у детей с нефротической формой ХГН отмечалось снижение всех исследованных параметров системы глутатиона в эритроцитах: GSH, ГПР и ГР. Следует заметить, что глутатионовая система является эффективной защитой от окислительного стресса [14]. Низкий уровень показателей системы глутатиона в плазме и в эритроцитах свидетельствует о слабой антиоксидантной защите при ХГН у детей. Полученные нами результаты показали, что с ростом активности нефротического синдрома происходит еще большее снижение показателей редокс-системы.

Глутатионовая система является участником метаболических реакций, поддерживающих клеточный гомеостаз и защищающих организм от окислительного стресса [14]. Центральный метаболит системы — трипептид глутатион (GSH) — глутамилцистеинилглицин. У восстановленного глутатиона (GSH) своя собственная антиоксидантная активность, он выполняет роль кофактора антиоксидантных ферментов, донора водорода, метаболита и субстрата с ферментами системы [5]. Восстановленный глутатион принимает участие в транспорте аминокислот, влияет на функции почечных мембран и резистентность клеток. Считается, что GSH является основным антиоксидантом эритроцитов, поддерживает их структурную целостность; участвует в процессе активации гемоглобина и оберегает его от действия окислителей; участвует в детоксикации водорода и гидроперексидов [11]. В настоящее время установлено, что GSH является важным внутриклеточным антиоксидантом, играя роль ловушки свободных радикалов в реакциях детоксикации пероксидов [5]. Исследователи объясняют важную роль глутатиона как антиоксиданта тем, что его молекула имеет высокий восстановительный потенциал и высокую концентрацию внутри клетки. Система, состоящая из глутатиона, ГПО и ГР, связывает свободные радикалы, восстанавливает продукты ПОЛ и в виде нетоксичных конъюгатов выводит их из организма [5,14]. Если активность системы снижена, то выполнить все эти функции она не в состоянии. Это приводит к утяжелению заболевания, что мы и наблюдали у обследованных пациентов.

Важным компонентом в системе глутатиона является и ГПО, которая участвует в пентозном цикле и в восстановлении глутатиона. Этот фермент играет ключевую роль в инактивации внутриклеточной перекиси водорода, используя в качестве доноров водорода GSH; катализирует реакции, в которых фермент восстанавливает пероксид водорода до воды, а также восстановление органических гидропероксидов до гидроксипроизводных, и в результате переходит в окисленную дисульфидную форму [10,13]. Помимо того, что ГПО обезвреживает перекись водорода, она также обезвреживает разные органические липидные пероксиды, образующиеся в организме вследствие активации ПОЛ, причем она превращает перекись водорода и липидные пероксиды в безвредные молекулы до образования ими свободных радикалов [10,13].

Следующий фермент системы глутатиона — ГР, флавопротеин с простетической группой флавинадениндинуклеотидом, состоит из двух идентичных субъединиц. Этот фермент ускоряет процесс восстановления глутатиона и участвует в формировании структуры протеинов. Учитывая тот факт, что синтез глутатиона постоянно осуществляется во всех клетках для сохранения окислительно-восстановительного равновесия [5,7], полученные сниженные показатели глутатионовой системы у детей с нефротической формой ХГН свидетельствуют о нарушении этого равновесия, что существенно выражено у пациентов со II и III степенью патологического процесса.

Таким образом, в результате проведенного исследования выявлено, что у детей с нефротической формой ХГН происходят изменения в системе антиоксидантной защиты. Уже при I степени активности нефротического синдрома выявляется снижение показателей системы глутатиона. Увеличение степени активности нефротической формы ХГН сопровождается прогрессирующим снижением ферментативной антиоксидантной защиты, особенно в эритроцитах, которая не может противостоять свободнорадикальному окислению. Мы не исключаем того, что нарушение функционирования ферментов системы глутатиона может играть существенную роль в развитии осложнений.

Выводы

1. У детей с нефротической формой ХГН отмечается изменение показателей системы глутатиона, которое выражается в снижении

уровня GSH, активности ГПО и ГР в плазме и эритроцитах.

2. Наименьшие изменения в состоянии системы глутатиона встречаются у детей в стадии ремиссии заболевания, что, по-видимому,

связано с некоторой адаптацией к заболеванию. По мере роста активности патологического процесса состояние адаптации нарушается.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Асатиани В.С. Ферментные методы анализа / В.С. Асатиани. — Москва: Наука, 1969. — 740 с.
2. Бабак О.Я. Глутатион в норме и при патологии: биологическая роль и возможности клинического применения / О.Я. Бабак // Здоров'я України. — 2015. — №1. — С.1—3.
3. Гаврилова А.Р. Определение активности глутатионпероксидазы эритроцитов при насыщающих концентрациях субстратов / А.Р. Гаврилова, Н.Ф. Хмара // Лабораторное дело. — 1986. — №12. — С.21—24.
4. Игнатова М.С. Проблемы нефрологии детского возраста на современном этапе развития медицины (Лекция) / М.С. Игнатова // Нефрология и диализ. — 2011. — Т.13, №2. — С.66—75.
5. Калинина Е.В. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов / Е.В. Калинина, Н.Н. Чернов, М.Д. Новичкова // Успехи биологической химии. — 2014. — Т.54. — С. 299—348.
6. Лучанинова В.Н. Актуальные вопросы детской нефрологии / В.Н. Лучанинова. — Владивосток: Медицина ДВ, 2012. — 196 с.
7. Основные редокс-пары клетки / Билан Д.С., Шохина А.Г., Лукьянов С.А., Белоусов В.В. // Биоорганическая химия. — 2015. — Т.41, №4. — С.385—402.
8. Плешкова Е.М. Окислительный стресс и его участие в развитии и течении болезней мочевой системы у детей / Е.М. Плешкова // Российский вестн. перинатол. и педиатрии. — 2014. — №5. — С.9—14.
9. Agayev M.M. Nefrologiya / M.M. Agayev. — Baki: "Ebilov, Zeynalov ve ouullari", 2007. — 352 p.
10. Bhabak K.P. Functional mimics of glutathione peroxidase: Bioinspired synthetic antioxidant / K.P. Bhabak, G. Mugesh // Acc. Chem. Res. — 2010. — Vol.43. — P.1408—1419.
11. Deponte M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione—dependent enzymes / M. Deponte // Biochim. Biophys. Acta. — 2013. — Vol. 1830. — P. 3217—3266.
12. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups / G.L. Ellman // Arch. Biochem. Biophys. — 1959. — Vol.82 (1). — P.70—77.
13. Mugesh G. Glutathione peroxidase activity of ebselen and its analogues: Some insights into the complex chemical mechanisms underlying the antioxidant activity / G. Mugesh // Curr. Chem. Biol. — 2013. — Vol.7. — P.47—56.
14. Multiple glutathione disulfide removal pathways mediate cytosolic redox homeostasis / Morgan B., Ezerina D., Amoako T. [et al.] // Nat. Chem. Biol. — 2013. — Vol.9. — P.119—112.

Сведения об авторах:

Бегляров Р.О. — Азербайджанский медицинский университет, г. Баку.
Статья поступила в редакцию 05.03.2017 г.