

© О.І. Ромаданова

УДК:616-006.312-036.12:611.018.74

О.І. Ромаданова

## ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННО-МЕТАБОЛІЧНИХ МЕХАНІЗМІВ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ОКИСНЮВАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗУ НА СТАДІЯХ ПРОГРЕСУВАННЯ ХРОНІЧНОЇ ХВОРОБИ НИРОК

Харківський національний медичний університет МОЗ України (м. Харків)

Дослідження виконано у межах дисертаційної роботи «Клітинні механізми прогресування хронічної хвороби нирок та шляхи її корекції» та НДР кафедри пропедевтики внутрішньої медицини №2 (наук. керівник - з.д.т.н. України, Лауреат Державної премії України у галузі науки і техніки, проф. Ж.Д. Семидоцька) Харківського національного медичного університету «Хронічна ниркова недостатність: предиктори прогресування та вторинна профілактика» (держреєстрація №0102U001863; 2004-2009 р.)

**Вступ.** Хронічна хвороба нирок (ХХН) є актуальною проблемою сучасної медицини [19, 20]. Останні ниркові реєстри свідчать про те, що від 21,7% до 32,4% усіх випадків термінальної ХХН пов'язані з потребою удосконалення лікувальної тактики. Патогенез ХХН є предметом чисельних наукових досліджень у всьому світі [11, 21]. Ключовим ланцюгом у розвитку ХХН є клітинні механізми, порушення локальної гемодинаміки та порушення клубочкової фільтрації. Останнім часом зростає інтерес до ролі цитокінів у прогресуванні ХХН, особливо так званих прозапальних цитокінів, які активують метаболізм сполучної тканини, стимулюють проліферацію фібробластів, епітеліальних клітин, мезанхіального матриксу, включаються до ланок імунзапальних процесів у якості медіаторів [1, 25]. Клініко-метаболічні особливості хворих на ХХН пов'язуються з формування термінальної ниркової недостатності, незалежно від її генезу, а корекція порушень окиснювального гомеостазу (ОГ) на рівні клітинних механізмів при первинних та вторинних гломерулярних ураженнях дозволяє уповільнити розвиток та прогресування ниркової недостатності. [22, 23].

**Мета дослідження** полягала у вивченні особливостей функціонування механізмів забезпечення окиснювального гомеостазу на стадіях прогресування хронічної хвороби нирок.

**Об'єкт і методи дослідження.** Виконання задач дослідження та його комплексної програми передбачало вивчення клініко-метаболічних взаємозв'язків між стадією ХХН, тривалістю основного захворювання та особливостями окиснювального метаболізму клітин, що формуються у хворих унаслідок системного впливу комплексу патогенних факторів. Дослідження впливу ХХН на формування метаболічних порушень окиснювального гомеостазу та біоенергетики клітин, зокрема оцінку стану про-, антиоксидантного захисту хворих з ХНН-I (n1=26; з тривалістю захворювання (12,2±0,6) р.) та хворих з ХНН-II-III (n2=78; з тривалістю захворювання

(18,9±1,2) р.), проведено за результатами порівняльного аналізу показників залежно від тривалості перебігу основного захворювання та стадій ХХН.

У системі клініко-біохімічного хворих з різними стадіями ХХН, окрім загально клінічних методів лабораторної діагностики, виконано дослідження стану окисно-відновного метаболізму (ОВМ) на рівні трьох базових підсистем: ОМБ та НК, біоенергетики клітин, ферментативного ланцюга та ПОЛ і NO-залежних метаболітів. Стан ферментативного ланцюга АОЗ оцінювали за показниками вмісту супероксиддесмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГПР), каталази (Кат) у еритроцитах та  $\alpha$ -токоферолу ацетату ( $\alpha$ -ТФА) у сироватці крові хворих. Вміст СОД визначалася неферментним методом [10, 13], який заснований на здатності СОД інгібувати відновлення нітросинього тетразолу (NBT) в присутності NADH2 та феназинметасульфату. Вміст ГПР визначали за методом R. Olinescu [7, 16]. Вміст каталази визначався спектрофотометрично [3, 28] при  $\lambda=410$  нм. Активність ферменту оцінювали за ступенем хімічного розпаду перекису водню, калориметрично.

Визначення  $\alpha$ -ТФА виконано спектрофотометрично [26] при  $\lambda=540$  нм; принцип методу базується на тому, що  $\alpha$ -ТКФ відновлює  $Fe^{3+}$  в  $Fe^{2+}$  у еквівалентному співвідношенні, при цьому новоутворений  $Fe^{2+}$  формує забарвлений комплекс з  $\alpha$ ,  $\alpha'$ -дипіриділом, максимум поглинання якого знаходиться при  $\lambda=540$  нм. Вміст МДА, як індикатора ВРО в плазмі визначено за методом Стальної І.Д. та Гаришвілі М.С. [7, 27]; принцип методу базується на здатності МДА при високій температурі реагувати з 2-тіобатуровою кислотою (ТБК), утворюючи забарвлений триметильний комплекс з максимумом поглинання при  $\lambda=532$  нм; оптичну щільність вимірювали на спектрофотометрі "Spresol-10".

Вміст ДК в плазмі; принцип методу [14, 29] полягає в екстрагуванні ДК сумішшю гептану та ізопропілового спирту і визначення їх вмісту у гептановій фазі (суміш сироватки крові гептаном гомогенізували у пристрої Поттера-Елвегейма) Після розшарування фаз відбирали гептанову фракцію та визначали оптичну щільність на спектрофотометрі «Perkin Elmelzambda – 20» при  $\lambda=232$  нм; вміст ТК в плазмі виконували аналогічно ДК, але у якості фонові проби використано гептан, а рівень ТК визначався при  $\lambda=270$  з перерахунком у мкмоль/л плазми. Вміст NO-залежних метаболітів (NOMET) в плазмі визначено за методикою Гресса [8, 30], якою передбачається послідовність підготовки плазми з наступною

інкубацією суміші плазми та реактиву Грисса і спектрофотометрію надопадової рідини при  $\lambda=540$  нм проти стандартизованих розведень реактиву; результат перераховували у мкмоль/л плазми.

Дослідження закономірностей ОМБ та НК у хворих з ПХЗ виконано за показниками вмісту білкових компонентів у сироватці крові – 2,4 – динітрофенілгідрозонів (ДНФГ) та альдегідних і карбонільних продуктів ОМБ у спонтанних та індукованих залізом реакціях [12]. Для оцінки ступеня окисної деструкції визначали (залежно від довжини хвилі спектрофотометра) дрібні ( $\lambda=254$  нм) ОМБ, виявлені в індукованих реакціях (ІД), середні ( $\lambda=270$  нм) ОМБ, виявлені в індукованих реакціях (ІС), крупні ( $\lambda=280$  нм) ОМБ, виявлені в індукованих реакціях (ІК) та аналогічні показники у спонтанних реакціях (СК, СС, СД). Для оцінки ступеня дефрагментації ОМБ використовували надопадову рідину, в якій спектрофотометрично виявляли пептиди при визначених довжинах хвиль [1,5].

Індуковану ОМБ забезпечено шляхом використання середовища Фентона (0,1М фосфатний буфер,  $\text{pH}=7,4$ , який містить один ммоль  $\text{FeSO}_4$  та 40,3 ммоль  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) з подальшою процедурою підготовки та спектрофотометрії надопадової рідини [9]; ступінь ОМБ визначали у одиницях оптичної густини на мг білка.

Рівень вмісту окисномодифікованих нуклеїнових кислот оцінювали за їх екскреторним (у сечі) індикатором – вмістом 8-гідроксигуаніну (8-ГГ) у добовій сечі методом хроматографії на пластинках «Силуфол» [2, 32]; у якості хроматографічного стандарту застосовано 8-ГГ з перерахунком у нмоль/л.

Оцінку активності аеробного та анаеробного окиснення виконано шляхом визначення вмісту малату (М), пірувату (П), лактату (Л) у еритроцитах [18]. Вміст пірувату досліджено за методом Цоха-Ломпрехта, спектрофотометрично при  $\lambda=340$  нм. Вміст малату досліджено за методом Хохорста; реєстрували спектрометрично ( $\lambda=340$  нм). За цим же методом вивчено вміст лактату, однак метаболічний механізм, який лежить у основі визначення лактату дещо інший:  $\text{Л}+\text{НАД}^{++}+\text{гідразин} \rightarrow \text{гідразин-П}+\text{НАДН}+\text{H}_2\text{O}$  і відбувається за присутності ЛДГ; відновлені форми НАД реєстрували спектрометрично при  $\lambda=340$  нм.

Рівень вмісту аденолових нуклеотидів визначали хроматографічним методом в системі діоксан-ізопропанол-вода-аміак (4:2:4:1), а ідентифікацію аденозиндифосфорної (АДФ), аденозинмонофосфорної (АМФ) та аденозинтрифосфорної (АТФ) кислот виконано в УФ-зоні на «УФС – 365» при  $\lambda=260$  нм [15].

При виконанні дослідження застосовано клініко-статистичні та клініко-інформаційні методи: анамнестичний кількісний аналіз, експертна оцінка з подальшим кількісним аналізом результатів; клініко-статистичні, зокрема: варіаційна статистика [17, 24], імовірнісний розподіл клінічних ознак з оцінкою достовірності одержаних результатів. Застосовано

кореляційний (метод рангів та метод лінійної кореляції) аналіз [31].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Стан окиснення фосфоліпідів та NO-залежних метаболітів залежно від стадії ХНН характеризується різноспрямованими змінами вмісту метаболітів та вмісту ферментів антиоксидантного захисту. Зокрема, ХНН-I характеризується достовірно ( $p<0,05$ ) більшим вмістом малонового діальдегіду - ( $0,823\pm 0,003$ ) мкмоль/л у порівнянні з ХНН-II - ( $0,812\pm 0,003$ ) мкмоль/л, що відбувається на тлі зростання ( $p<0,001$ ) вмісту нітританіону з ( $30,74\pm 0,126$ ) мкмоль/л до ( $32,03\pm 0,300$ ) мкмоль/л. Наведене дозволяє констатувати наявність залежності між стадією ХНН та накопиченням продуктів окиснення фосфоліпідів і NO-залежних метаболітів. Значимі та достовірні ( $p<0,05$ ) зміни виявлені при аналізі стану ферментативного ланцюга АОЗ: менша активність ГПР при ХНН-II – ( $32,10\pm 0,196$ ) у.о./хв, відносно хворих з ХНН-I - ( $32,80\pm 0,281$ ) у.о./хв. Отже, аналіз залежностей між стадією ХНН та метаболічними показниками, які характеризують стан ПОЛ виявив відносно зменшення вмісту продуктів ПОЛ, накопичення NO-залежних метаболітів на тлі зниження активності ГПР, що пояснюється формуванням функціональної декомпенсації системи АОЗ при прогресуванні ХНН та підтверджується наявністю значимого зворотного середньої сили кореляційного взаємозв'язку ( $r_{XY}=-0,365$ ) між показниками.

Спонтанна та індукована окисна модифікація білків та нуклеїнових кислот досліджена у взаємозв'язку зі стадією ХНН, що дозволило з'ясувати відносну стабільність вмісту альдегідних продуктів спонтанної окисної модифікації білків і довести, що іОМБ не залежить ( $p<0,05$ ) від стадії ХНН. Однак, у хворих з ХНН-II виявлено ( $p<0,05$ ) відносно менший вміст усіх досліджуваних груп ОМБ у реакціях спонтанного окиснення (при ХНН-I – ( $2,266\pm 0,016$ ) у.о./мг білка; при ХНН-II – ( $2,209\pm 0,014$ ) у.о./мг білка, відповідно). Аналогічною закономірністю характеризується окисна модифікація НК: у хворих з ХНН-I: вміст 8-гідроксигуаніну становить ( $0,570\pm 0,012$ ) нмоль/л, а з ХНН-II – ( $0,534\pm 0,006$ ) нмоль/л ( $p<0,05$ ), що може пояснюватися переважним витрачанням вільних форм кисню в процесах ПОЛ та на інактивацію метаболітів та є передумовою індивідуалізації клінічного застосування антиоксидантів із урахуванням стадії ХНН.

Аналіз біоенергетики, який виконано за показниками вмісту аденолових нуклеотидів в еритроцитах периферичної венозної крові осіб з різними стадіями ХНН виявив, що рівень вмісту АТФ при ХНН-I достовірно ( $p<0,05$ ) вищий, ніж при ХНН-II (відповідно: ( $1,202\pm 0,001$ ) мкмоль/г (Hb) та ( $1,197\pm 0,002$ ) мкмоль/г (Hb)). Вміст АДФ у хворих з ХНН-II становить - ( $0,334\pm 0,003$ ) мкмоль/г (Hb) та достовірно ( $p<0,05$ ) нижчий, ніж у хворих з ХНН-I - ( $0,348\pm 0,005$ ) мкмоль/г (Hb), що свідчить на користь значимих змін біоенергетики клітини при прогресуванні ХНН. Зміни окисного анаеробного гліколізу хворих з ХНН-I – достовірні та характеризуються відносно більшим

вмістом лактату –  $(5,420 \pm 0,009)$  мкмоль/г (Hb) у порівнянні з хворими з ХХН-II –  $(5,403 \pm 0,009)$  мкмоль/г (Hb). Отже, залежно від стадії ХХН виявлені достовірні зміни стану біоенергетики, анаеробного гліколізу при стабільних показниках активності окиснення у циклі Кребса, що в узагальненому вигляді можна охарактеризувати як патогенетично зумовлений перерозподіл ресурсів ВРО з пригніченням філогенетично більш ранніх механізмів. Зважаючи на визначальну роль лактату у механізмах дискоординованої функціонування циклу Кребса та в переключенні енергообміну на гліколітичний шлях, можна дійти висновку про те, що моніторинг вмісту лактату у хворих, які знаходяться на стадії ХХН-I можна застосовувати для прогнозування перебігу ХХН.

Дослідження стану окиснення фосфоліпідів та NO-залежних метаболітів у взаємозв'язку зі стадією ХХН виявило окремі закономірності метаболічного профілю хворих; достовірні зміни виявлені у показниках вмісту NO-залежних метаболітів, зокрема нітританіону. Так, якщо у першій групі хворих вміст нітританіону становить  $(30,62 \pm 0,04)$  мкмоль/л, то в групі хворих з ХХН-I вміст нітританіону достовірно ( $p > 0,05$ ) вищий (становить  $(32,05 \pm 0,29)$  мкмоль/л; а в групі з ХХН-II вміст нітританіону достовірно ( $p > 0,05$ ) не відрізняється від аналогічного показника у першій групі хворих та становить  $(30,53 \pm 0,28)$  мкмоль/л. Слід зазначити, що інші метаболіти окиснення фосфоліпідів характеризуються відносною стабільністю ( $p > 0,05$ ). Значимі та достовірні ( $p < 0,05$ ) зміни зареєстровані при аналізі стану ферментативного ланцюга АОЗ, зокрема активність ГПР зменшується зі зростанням стадії ХХН та сягає достовірних міжгрупових відмінностей. Отже, аналіз залежностей між стадією ХХН та метаболічними показниками, які характеризують стан ПОЛ виявив відносно збільшення вмісту нітританіону на тлі стабільного зниження активності ГПР, що пояснюється формуванням функціональної декомпенсації ферментативного ланцюга АОЗ при прогресуванні ХХН.

ОМБ залежно від стадії ХХН характеризується достовірним ( $p < 0,05$ ) зменшенням вмісту окисно модифікованих нуклеїнових кислот (з  $(0,570 \pm 0,021)$  нмоль/л до  $(0,538 \pm 0,005)$  нмоль/л) при зростанні стадії ХХН та процесами спонтанної окисної деструкції до білкових компонентів середніх розмірів (при  $\lambda = 253$  нм). При цьому вміст і альдегідних і карбонільних продуктів ОМБ – стабільний. Звертає увагу факт достовірного ( $p < 0,05$ ) зменшення вмісту окисно модифікованих білкових компонентів малого розміру у реакції іОМБ на тлі тенденції до зростання компонентів середнього та крупного розмірів, що може свідчити на користь зменшення функціональних резервів АОЗ при прогресуванні ХХН. У цілому, можна констатувати, що існує залежність між вмістом ОМНК, ступенем окисної деструкції білка та стадією ХХН, що проявляється зміною вмісту 8-гідроксигуаніну та зміною структури первинно модифікованих білкових фрагментів. Ці процеси відбуваються на тлі зміни біоенергетики клітин. Так, при прогресуванні ХХН виявлено достовірне ( $p < 0,05$ )

зменшення абсолютного вмісту АТФ (при ХХН-I вміст АТФ становить  $(1,204 \pm 0,003)$  мкмоль/г (Hb), а при ХХН-II –  $(1,198 \pm 0,002)$  мкмоль/г (Hb)), що свідчить про зниження біоенергетики клітин впродовж розвитку нікової недостатності. Аналогічною закономірністю характеризується динаміка вмісту АДФ, що формує відносно збільшення абсолютного вмісту АМФ. Отже, прогресування ХХН – чутливий індикатор щодо оцінки клініко-метаболічного стану хворих: зі зростанням стадії ХХН має місце відносно збільшення вмісту нітританіону на тлі стабільного зниження активності ГПР, що пояснюється формуванням декомпенсації ферментативного ланцюга АОЗ; ним маркується динаміка ОМНК та ОМБ, а також вміст аденілових нуклеотидів.

Кореляційний аналіз показників окисної модифікації нуклеїнових кислот та білків у хворих на ХХН передбачав вивчення внутрішньосистемних взаємозв'язків між ОМБ та ступенем їх деструкції. З'ясовано, що процес окисної модифікації характеризується розгалуженою системою взаємозв'язків та у найбільшій мірі визначається спонтанною модифікацією білкових компонентів крупних розмірів ( $r_{xy} = 280$ ), а в реакціях індукованої ОМБ – рівнем вмісту альдегідних продуктів ОМБ ( $K_{iOМБ} = 0,316 \pm 0,059$ ) та окисною модифікацією білкових компонентів середнього розміру. Значимим фактором ( $p < 0,05$ ) з найвищим коефіцієнтом ( $K_{c\lambda} = 280 = 0,364 \pm 0,049$ ) є вміст спонтанно модифікованих білкових компонентів крупних розмірів. За результатами кореляційного аналізу виявлено, що кількість окисно модифікованих крупних білкових компонентів залежить від вмісту окисно модифікованих білкових компонентів малих розмірів у спонтанних ( $r_{xy} = +0,538$ ) та індукованих реакціях ( $r_{xy} = -0,493$ ) та вміст карбонільних продуктів ОМБ залежить ( $r_{xy} = +0,532$ ) від кількості окисно модифікованих білкових компонентів малих розмірів. Водночас, вміст альдегідних та карбонільних продуктів ОМБ у реакціях індукції визначається вмістом окисно модифікованих білкових компонентів середніх розмірів, що можна пояснити особливостями процесу окисної модифікації на етапах прогресування ХХН.

Отже, стан про-, антиоксидантного захисту хворих з ХХН при оцінці ОМБ характеризується системоутворюючим впливом окисно модифікованих компонентів крупних та малих розмірів, а вміст альдегідних та карбонільних продуктів залежить від вмісту модифікованих білкових компонентів в спонтанних реакціях окисної модифікації. Слід зазначити, що інформативним критерієм стану окисної модифікації є вміст 8-гідроксигуаніну, як найбільш чутливого показника окисної модифікації (кореляційні взаємозв'язки з показниками ОМБ менше 0,3, що свідчить про його незалежність та можливість застосування у якості самостійного біохімічного критерію). Кореляційний аналіз показників окиснення фосфоліпідів та NO- залежних метаболітів у хворих з ХХН передбачав вивчення внутрішньосистемних взаємозв'язків між показниками ферментативної ланки про-, антиоксидантного захисту, процесом

накопичення первинних продуктів ПОЛ та вмісту нітританіону, як індикатора стану NO- залежних механізмів окиснення.

З'ясовано, ферментативна ланка про-, антиоксидантного захисту (ГПР, Кат, СОД) і рівень вмісту  $\alpha$ -ТФА взаємозв'язані з рівнем вмісту продуктів ПОЛ. Із урахуванням кількості достовірних ( $p < 0,05$ ) взаємозв'язків та середньої сили цих взаємозв'язків для кожного із аналізованих факторів визначені коефіцієнти системоутворення (Кс), які в узагальненому вигляді характеризують найбільш впливові фактори (показники ПОЛ) системи про-, антиоксидантного захисту.

Системоутворюючим фактором ферментативної ланки АОЗ з найвищим коефіцієнтом (КГПР=0,233±0,077) є активність ГПР; саме цей фермент, як показав аналіз, має найбільшу кількість кореляційних взаємозв'язків, що визначає його значимість у формуванні компенсаторних реакцій антиоксидантного захисту у хворих на етапах формування та прогресування ХХН. Зв'язок між вмістом ГПР та іншими ферментами реалізується через вміст каталази ( $r_{xy}=+0,590$ ), активність якої, в свою чергу, взаємозв'язана як з активністю СОД ( $r_{xy}=+0,179$ ), так і з вмістом вільних радикалів під впливом яких формується рівень NO - залежних метаболітів. Системоутворюючим фактором накопичення продуктів ПОЛ є вміст ДК (КДК=0,201±0,036). У порівнянні з іншими продуктами ПОЛ, рівні вмісту яких корелюють з ДК, останній відрізняється тим, що має прямий взаємозв'язок з рівнем  $\alpha$ -ТФА у сироватці крові, що є додатковою ланкою механізму формування ферментативної відповіді, переважно на NO - залежну пероксидацію. Отже, стан про-, антиоксидантного захисту хворих з ХХН характеризується системоутворюючим впливом двох основних індикаторів: активність ГПР у еритроцитах периферичної крові (ферментативний ланцюг) та вміст нітританіону (продукти ПОЛ) в сироватці крові хворих на ХХН.

Кореляційний аналіз показників активності аеробного та анаеробного окиснення у хворих з ХХН передбачав вивчення внутрішньосистемних взаємозв'язків між показниками анаеробного гліколізу (за вмістом лактату і пірувату у еритроцитах периферичної крові хворих), активності окиснення у циклі Кребса та показниками біоенергетики (за рівнем аденілових нуклеотидів). Із урахуванням кількості достовірних ( $p < 0,05$ ) взаємозв'язків та середньої сили цих взаємозв'язків для кожного із аналізованих факторів визначені коефіцієнти системоутворення (Кс), які в узагальненому вигляді характеризують найбільш впливові фактори (рівень вмісту АТФ, пірувату та малату). Системоутворюючим фактором стану біоенергетичних процесів у хворих з ХХН з найбільшим коефіцієнтом (КГПР=0,213±0,020) є рівень вмісту АТФ ( $p < 0,05$ ). Цей аденіловий нуклеотид, як показав аналіз, має найбільшу кількість кореляційних взаємозв'язків, що визначає його значимість у формуванні особливостей біоенергетичних процесів при ХХН. Зв'язок АТФ з іншими аденіловими нуклеотидами характеризується наявністю

різноспрямованих залежностей (АМФ – зворотній зв'язок:  $r_{xy}=-0,190$ , АДФ – прямий:  $r_{xy}=+0,180$ ), а найбільш виразним є кореляційний взаємозв'язок з показником активності окиснення у циклі Кребса (аеробний гліколіз). Водночас, звертає на себе увагу значна кількість взаємозв'язків між рівнем АМФ та показниками активності окиснення як в аеробних так і анаеробних механізмах. Слід зазначити, що у системі біоенергетичних взаємозв'язків АМФ є біоенергетичним антагоністом інших аденілових нуклеотидів, що можливо, забезпечується його метаболічним синергізмом з піруватом. Отже, якщо АТФ – має прямий взаємозв'язок з активністю аеробного гліколізу ( $r_{xy}=+0,263$ ), то АМФ пов'язана з активністю анаеробного гліколізу ( $r_{xy}=+0,156$ ). Зважаючи на слабкі кореляційні залежності у системі показників біоенергетичного обміну можна дійти висновку щодо наявності патогенетично зумовленого пригнічення біоенергетичних процесів на етапах формування та прогресування ХХН.

Узагальнений аналіз закономірностей формування метаболічних проявів у хворих з ХХН дозволив виявити характерні зміни у механізмах пероксидації фосфоліпідів, НК та білків, а також особливості перебігу біоенергетичних процесів. Тривалість основного захворювання і тяжкість ХХН, тісно пов'язані з особливостями клітинного метаболізму. Так, залежно від тривалості основного захворювання окиснення фосфоліпідів та NO - залежний метаболізм характеризується метаболічними індикаторами (ГПР та ТК), ОМБ – одним (ступенем дефрагментації) та зміною окисної активності як в аеробних, так і анаеробних механізмах.

Тяжкість ХХН, як клінічний еквівалент метаболічних розладів характеризується п'ятифакторним комплексом індикаторів: зниженням активності ферментативного ланцюга про-, антиоксидантного захисту (ГПР та Кат), зниження базових показників біоенергетичного стану клітин (АДФ, АТФ), а також – зміною вмісту продуктів окисної модифікації нуклеїнових кислот.

Стадійність ХХН – найбільш впливовий та інформативний клінічний еквівалент метаболічних порушень, пов'язаних з пероксидацією та зміною біоенергетичного потенціалу функціонуючих клітин. Зі стадією ХХН пов'язується комплекс достовірних метаболічних змін на рівні ПОЛ, ОМБ та біоенергетики клітин. Зокрема, у механізмах ПОЛ, стадія ХХН достовірно впливає на ферментативний ланцюг (ГПР), накопичення кінцевих продуктів ПОЛ (МДА) та формування рівня NO – залежних метаболітів. Зниження активності анаеробних окиснювальних процесів (лактат) та зниження біоенергетичного потенціалу клітин (АТФ, АДФ) – також достовірно (на рівні  $p < 0,05$ ) залежать від стадії процесу. В системі ОМБ та ОМНК найбільш достовірним метаболічним індикатором, пов'язаним зі стадією ХХН є вміст НК. Наведене свідчить про наявність значимих взаємозв'язків між особливостями клінічного перебігу ХХН (стадії, тяжкості, давності захворювання) та ступенем виразності порушень окиснювального

## КЛІНІЧНА ТА ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

гомеостазу, що дозволяє обґрунтувати індивідуалізоване застосування антиоксидантних засобів у якості корекції властивих для ХХН клітинно - метаболічних порушень.

Розглядаючи окиснювальний гомеостаз на рівні клітини, як багатокомпонентну динамічну систему, досліджені внутрішньоклітинні структурно - функціональні взаємозв'язки між окремими індикаторами ферментативного ланцюга АОЗ, метаболічними індикаторами ПОЛ, ОМБ, аеробного та анаеробного гліколізу і біоенергетичними показниками хворих з ХХН, що дозволило визначити метаболічні особливості хворих на різних стадіях ХХН.

Для оцінки стадійних відмінностей у формуванні структурно - функціональних співвідношень між різними компонентами окиснювального гомеостазу досліджена структура та виразність кореляційних взаємозв'язків між метаболічними показниками при ХХН-I та ХХН-II. З'ясовано, що стан окисно-відносних процесів у хворих цих двох груп характеризується принципово різними (за напрямком та силою

взаємозв'язку) структурно - функціональними співвідношеннями (табл.). Структурно - функціональний стан ферментативного ланцюга АОЗ хворих з ХХН-I характеризувався низькою кількістю метаболічних взаємозв'язків – (61,5±5,0) од, які на 85,0% були виповнені слабкими ( $r_{xy} < 0,3$ ) кореляційними взаємозв'язками, що відповідає низькому рівню впорядкованості клініко – метаболічної системи. При ХХН-II виявлена достовірно більша кількість ( $p < 0,05$ ) та виразність функціональних взаємозв'язків (середньої сили – до 45,8±5,1; сильних – до 5,2±2,3) за рахунок більшої питомої ваги взаємозв'язків середньої сили та у цілому більш стабільної структурно - функціональної організації підсистеми ферментативного забезпечення АОЗ, а в узагальненому вигляді зміни цієї підсистеми характеризувався індексом прогресування, що склав ІСЗ=1,557 од.

Рівні вмісту продуктів ПОЛ та NO - метаболітів у хворих з ХХН-I характеризувались незначною кількістю міжсистемних взаємозв'язків – (71,9±4,6) од, які на 87,0% були виповнені слабкими ( $r_{xy} < 0,3$ )

Таблиця

### Структурно-функціональні взаємозв'язки у системі окислювального гомеостазу клітин залежно від стадії хронічної хвороби нирок

Кількість та рівень достовірних ( $p < 0,05$ ) взаємозв'язків між показниками функціонального стану окремих підсистем окислювального гомеостазу		Стан окислювального гомеостазу клітин					
		Показники стану проантиоксидантного захисту клітин			Показники біоенергетичного стану клітин		
		ферментативний ланцюг (к=96)	метаболічний ланцюг: ПОЛ (к=96)	метаболічний ланцюг ОМБ (к=240)	активність окиснення (к=72)	біоенергетика клітин (к=72)	
Абсолютна кількість кореляційних взаємозв'язків	$r_{xy} < 0,3$	ХХН-I	50	60	167	40	44
		ХХН-II	30	30	163	22	26
	$0,3 \leq r_{xy} < 0,7$	ХХН-I	9	9	24	6	5
		ХХН-II	44	55	52	45	41
	$r_{xy} \geq 0,7$	ХХН-I	-	-	-	-	-
		ХХН-II	5	3	2	2	3
	усього	ХХН-I	59	69	191	46	49
ХХН-II		79	88	217	69	70	
Питома вага взаємозв'язків різних рівнів	$r_{xy} < 0,3$	ХХН-I	52,1±5,1	62,5±4,9	69,6±3,9	55,6±5,9	61,1±5,7
		ХХН-II	31,3±4,7	31,3±4,7	67,9±3,0	36,6±5,4	36,1±5,7
	$0,3 \leq r_{xy} < 0,7$	ХХН-I	9,4±3,0	9,4±3,0	10,0±1,9	8,3±3,3	6,9±3,0
		ХХН-II	45,8±5,1	57,3±5,0	21,7±2,7	59,2±5,6	56,9±5,8
	$r_{xy} \geq 0,7$	ХХН-I	-	-	-	-	-
		ХХН-II	5,2±2,3	3,1±1,8	0,8±0,6	2,8±1,9	4,2±2,4
	усього	ХХН-I	61,5±5,0	71,9±4,6	79,6±2,6	60,6±5,6	68,1±5,5
		ХХН-II	82,3±3,9	91,7±2,8	90,4±1,9	95,8±2,4	97,2±1,9
Функціональна ентропія підсистем клітинного метаболізму	ХХН-I	0,811	0,744	0,430	0,769	0,700	
	ХХН-II	1,262	1,140	0,552	1,121	1,186	
$I_{сз}$	1,557	1,531	1,283	1,458	1,693		

**Примітка:** ІСЗ – індекс прогресування; к – максимально-можлива кількість структурно - функціональних взаємозв'язків у підсистемі окислювального метаболізму клітин; к - кількість достовірних кореляційних взаємозв'язків

кореляційними взаємозв'язками, що відповідає низькому рівню впорядкованості системи. При ХНН-II кількість цих взаємозв'язків значно більша ( $p < 0,05$ ) та, відповідно більша і виразність взаємозв'язків (середньої сили – до  $57,3 \pm 5,0$ ; сильних – до  $3,1 \pm 1,8$ ) за рахунок достовірно меншої кількості слабких взаємозв'язків; у цілому, при ХНН-II має місце більш «жорстка» структурно-функціональна організація цієї підсистеми АОЗ, а в узагальненому вигляді зміни цієї підсистеми окиснювального гомеостазу характеризувався індексом прогресування, що склав  $I_{cs} = 1,531$  од.

### Висновки.

1. Міжсистемні взаємозв'язки підсистеми ОМБ та НК, як при ХНН-I, так і при ХНН-II характеризуються наявністю переважно слабких функціональних зв'язків ( $69,6 \pm 3,9$  та  $67,9 \pm 3,0$ , відповідно) з достовірним зменшенням впорядкованості системи за рахунок порушення взаємозв'язків середньої сили (ХНН-I –  $10,0 \pm 1,9$ ; ХНН-II –  $21,7 \pm 2,7$ ). У цілому структурно-функціональна організація цієї підсистеми з підвищенням стадійності ХНН погіршується, а в узагальненому вигляді зміни цієї підсистеми ОГ характеризувався індексом прогресування, що склав  $I_{cs} = 1,283$  од.

2. Підсистема аеробного та анаеробного окиснення хворих з ХНН-II характеризувалась переважанням слабких функціональних взаємозв'язків (близько 90,0% від загальної кількості) та у значній

мірі відрізнялась від ХНН-I, що проявилось зменшенням ( $p < 0,05$ ) взаємозв'язків середньої сили (з  $59,2 \pm 5,6$  до  $8,3 \pm 3,3$ ) та достовірним ( $p < 0,05$ ) збільшенням слабких взаємозв'язків (з  $36,6 \pm 5,4$  до  $55,6 \pm 5,9$ ); в узагальненому вигляді зміни цієї підсистеми ОГ характеризувалися індексом прогресування, що склав  $IC3 = 1,458$  од, при зменшенні впорядкованості підсистеми: з  $1,121$  біт до  $0,769$  біт.

3. Підсистема БЕО метаболізму клітин у хворих з ХНН-II характеризувалась переважанням слабких взаємозв'язків (91,0% від загальної кількості) та у найбільшій мірі виявила наявність прогресуючих змін у порівнянні з ХНН-I, що проявилось зменшенням ( $p < 0,05$ ) питомої ваги взаємозв'язків середньої сили (з  $56,9 \pm 5,8$  до  $6,9 \pm 3,0$ ) та достовірним ( $p < 0,05$ ) збільшенням питомої ваги слабких взаємозв'язків (з  $36,1 \pm 5,7$  до  $61,1 \pm 5,7$ ). При ХНН-II структурно-функціональна організація цієї підсистеми клітинного метаболізму значно погіршилась; в узагальненому вигляді її зміни характеризувалась індексом прогресування, що склав  $I_{cs} = 1,693$  од, при одночасному зменшенні впорядкованості підсистеми (з  $1,186$  біт до  $0,700$  біт).

**Перспективними напрямками подальших досліджень** є розробка класифікації реакцій системи окиснювального гомеостазу при ХНН з метою індивідуалізації комплексного лікування та сповільнення прогресування ХНН.

### Список літератури

1. Абакумова Ю.В. Физиологическое и патологическое свободнорадикальное окисление: сущность, методика распознавания, теоретическое и практическое значение / Ю.В. Абакумова // *Врачевание и его методология*. - Саратов, 1996. - №4. - С.33-38.
2. Ардаматский Н.А., Абакумова Ю.В., Корсунова Е.Н. Методика определения физиологического и патологического перекисного окисления / Н.А. Ардаматский, Ю.В. Абакумова, Е.Н. Корсунова // *Экоген*. - 1994. - №4. - С. 9-14.
3. Арутюнян А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма / А.В. Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.Н. Зыбина. - СПб: ЛИК, 2000. - С.44-49
4. Аткинс Р. Гломерулонефриты / Р. Аткинс // *Нефрология и гемодиализ*. - 2000. - Т. 2, №4. - С. 225-230.
5. Беленічев І.Ф. Продукти вільно радикального перекисного окислення та методи їх ідентифікації / І.Ф. Беленічев, Є.Л. Левицький, С.І. Коваленко // *Современные проблемы токсикологии*. - 2002. - №4. - С. 9-18.
6. Гаврилов Б.В. Спектрофотометрическое определение содержания ГПР в плазме крови / Б.В. Гаврилов, М.И. Мишкорудная // *Лабораторное дело*. - 1983. - №3. - С. 33-36.
7. Гаврилов Б.В. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с ТБК / Б.В. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, Л.М. Мажуль // *Вопросы медицинской химии*, 1987. - Т.33, №1. - С. 118-123.
8. Горбунов Н.В. Активация образования окиси азота, опосредованная метаболитами глутаматными рецепторами в первичных культурах клеток – зёрен мозжечка / Н.В. Горбунов // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 1995. - №7. - С. 40-48.
9. Гунський Ю.І. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідях *in vitro* / Ю.І. Гунський, В.В. Дунаев, І.Ф. Беленічев // *Метод. рекомендації*. - Київ, 2002. - 26 с.
10. Гуревич В.С. Сравнительный анализ двух методов определения активности супероксиддисмутазы / В.С. Гуревич, К.Н. Конторидинона, С.В. Шапилина // *Лабораторное дело*, 1990. - №4. - С. 44-47.
11. Доказательная медицина // Ежегодный международный справочник. - Вып.3. - Пер. с англ. - Москва: Медиа-Сфера, 2004. - 687 с.
12. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека. Методы ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов // *Вопросы медицинской химии*, 1995. - Т.42, №1. - С.24-26.
13. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения супероксиддисмутазы, основанной на реакции окисления кверцетина / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж.В. Ковалёва // *Вопросы медицинской химии*. - 1990. - №32. - С. 88-91.
14. Косухин А.Б. Экстракция липидов смесью гептан изопропанол для определения диеновых конъюгатов / А.Б. Косухин, Б.С. Ахметова // *Лабораторное дело*. - 1987. - №5. - С.335-337.
15. Лабораторные исследования в клинике: Справочник / Под ред. Меньшикова В.В. - М.: Медицина, 1987. - 368 с.
16. Лемешко В.В. Глутатионпероксидаза и глутатионтрансфераза / В.В. Лемешко, Ю.В. Никитченко, И.В. Евич // *Український біохімічний журнал*. - 1987. - №8. - С. 59-57.
17. Лишук В.А. Информатизация клинической медицине / В.А. Лишук // *Клиническая информатика и телемедицина*, 2004. - №1. - С.7-13.

18. Методы биохимических исследований / Под ред. М.И. Прохоровой. – Ленинград: ЛГУ, 1982. – 278 с.
19. Пиріг Л.А. Дисліпідемія при гломерулонефриті та значення для прогресування захворювань нирок / Л.А. Пиріг, І.А. Дудар // *Врачебная практика*. – 2000. – №2. – С. 13–20.
20. Пиріг Л.А. Механізми і шляхи подолання резистентності перебігу захворювань нирок в терапевтичній клініці / Л.А. Пиріг // *Тези XIV з'їзду терапевтів України*. – Київ. – 1998. – С. 134.
21. Пиріг Л.А. Організація нефрологічної допомоги на засадах сімейної медицини / Л.А. Пиріг // *Укр. журнал нефрології та діалізу*. – 2005. – №3. – С. 1-3.
22. Семидоцкая Ж.Д. Интерлейкины – маркеры течения хронической болезни почек / Ж.Д. Семидоцкая, Т.С. Оспанова, И.А. Чернякова // *Материалы III з'їзду нефрологів України*. – Луганськ, 2009. – С. 44-48.
23. Семидоцкая Ж.Д. Про чинники прогресування хронічної ниркової недостатності / Ж.Д. Семидоцкая, Т.С. Оспанова, О.С. Більченко // *Український журнал нефрології та діалізу*. – 2005. – № 3 (6). – С. 57-60
24. Соціальна медицина та організація охорони здоров'я / Заг. ред. Москаленко В.М., Вороненко Ю.В. / Підручник. – Тернопіль, 2002. – С.50-75.
25. Тареева И.Е. Пути торможения развития хронической почечной недостаточности / И.Е. Тареева, И.М. Кутырина, А.Ю. Николаев, Н.Л. Лифшиц, М.Ю. Швецов // *Терапевтический архив*. – 2000. – Т.72. – №6. – С. 9–14.
26. Щербань Н.Г. Лабораторные методики для изучения состояния антиоксидантной системы организма и уровня перекисного окисления липидов / Н.Г. Щербань, Т.И. Горбач, Н.Р. Гусева // *Методические рекомендации для докторантов, аспирантов, магистрантов, исполнителей НИР*. – Харьков: ХДМУ, 2004. – 36 с.
27. Якушев В.С. Влияние гистидина на содержание МДА в тканях при экспериментальном инфаркте миокарда / В.С. Якушев, Р.И. Лифшиц // *Вопросы медицинской химии*, 1979. – Т.22, № 4. – С.476-478.
28. Dillard C.J. Lipid peroxidation products in biological tissues / C.J. Dillard, A.L. Tappel // *J. Free Radic. Biol. Med.* - 1989. - Vol.7. - P.193-196.
29. Dormandi T. The experimental and clinical pathology of diene conjugation / T. Dormandi, D.Wickens // *Chem. Phys. Lipids*, 1987. - Vol.45. - P. 353-364.
30. Hevel S.M. Purification of the inducible murine macrophage nitric oxide synthase / S.M. Hevel, K.A. White // *J. Biol. Chem.* - 1991. – Vol. 266. - №11. – P. 789-791.
31. Poque J.Y. Overcoming the limitation of current meta-analysis of randomized controlled trials / J.Y. Poque // *Lancet*. - 1998. - Vol.351, №7240. - P. 971-975.
32. Chromatografia na tenrych vrstvach vo farmácii a v klinickej biochemii / M. Sarsunova, V. Schwarz, C. Michalec.-Pragha: Vydavatelstvo Osveta, 1980. -621 p.

УДК 616-006.312-036.12:611.018.74

### **ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННО-МЕТАБОЛІЧНИХ МЕХАНІЗМІВ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ОКИСНЮВАЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗУ НА СТАДІЯХ ПРОГРЕСУВАННЯ ХРОНІЧНОЇ ХВОРОБИ НИРОК**

**Ромаданова О.І.**

**Резюме.** Досліджено особливості клітинно-метаболических механізмів забезпечення окиснювального гомеостазу на стадіях прогресування хронічної хвороби нирок та виявлені взаємозв'язки підсистеми окисної модифікації білків, нуклеїнових кислот, анаеробного та аеробного окиснення і біоенергетичного обміну клітин з прогресуванням ниркової недостатності. Продемонстровано залежність між показниками окиснювального гомеостазу та стадією хронічної хвороби нирок

**Ключові слова:** хронічна хвороба нирок, клітинні механізми прогресування, окиснювальний гомеостаз.

УДК 616-006.312-036.12:611.018.74

### **ОСОБЕННОСТИ КЛЕТочно-МЕТАБОЛических МЕХАНИЗМОВ ОБЕСПЕЧЕНИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ГОМЕОСТАЗА НА СТАДИЯХ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК**

**Ромаданова О.И.**

**Резюме.** Изучены особенности клеточно – метаболических механизмов обеспечения окислительного гомеостаза на стадиях прогрессирования хронической болезни почек и выявлены взаимосвязи между уровнем окислительной модификации белков и нуклеиновых кислот, аэробным и анаэробным окислением, а также биоэнергетическим обменом и прогрессированием почечной недостаточности. Продемонстрировано зависимость между показателями окислительного гомеостаза и стадией хронической болезни почек.

**Ключевые слова:** хроническая болезнь почек, клеточные механизмы прогрессирования, окислительный гомеостаз.

UDC 616-006.312-036.12:611.018.74

### **Peculiarities Of Cell-Metabolic Mechanisms Of Oxidative Homeostasis In Stages Of Progression Of Chronic Kidney Disease**

**Romanova O.I.**

**Summary.** The features of cellular metabolic mechanisms of oxidative homeostasis in the stages of chronic kidney disease progression are investigated and relationships in subsystem of oxidative modification of proteins, nucleic acids, anaerobic and aerobic oxidation and cells bioenergetic exchange with the progression of renal failure are found out. The relationship between indicators of oxidative homeostasis and chronic kidney disease stage is demonstrated

**Key words:** chronic kidney disease, cellular mechanisms of progression, oxidative homeostasis.

Стаття надійшла 26.09.2011 р.