

УДК 577.15:[616.61-002.3+616.379-008.64

МАНИЩЕНКОВА Ю.А., ШКАЛА Л.В., ДУДИЧ Т.И., ЛИТВИНОВА М.И., ИВАНОВА М.А.
ГУ «Луганский государственный медицинский университет»

ОКСИДАНТНЫЙ СТРЕСС У БОЛЬНЫХ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-го ТИПА, СОЧЕТАННЫМ С ОБОСТРЕНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО ПИЕЛОНЕФРИТА

Резюме. В статье представлена информация о состоянии окислительно-восстановительного процесса при обострении хронического пиелонефрита у больных с сахарным диабетом (СД) 2-го типа. **Цель исследования** — оценка степени оксидантного стресса (ОС) и состояния антиоксидантной системы у пациентов с обострением хронического пиелонефрита (ХП) на фоне СД 2-го типа. **Материалы и методы.** Под клиническим наблюдением находились 88 больных ХП на фоне СД 2-го типа в возрасте от 43 до 80 лет. Первая группа больных получала терапию ломефлоксацином или цефтриаксоном и сахароснижающие препараты. Другая группа получала антибактериальную и сахароснижающую терапию, а также комбинацию препаратов канефрон Н и тиотриазолин. **Результаты исследования.** У больных с коморбидной патологией обострения ХП сопровождаются более выраженными прооксидантными процессами. Добавление к антибактериальной и сахароснижающей терапии комбинации препаратов канефрон Н и тиотриазолин повышает эффективность лечебного процесса и позитивно влияет на состояние окислительно-восстановительного потенциала организма. **Выводы.** В сыворотке крови больных ХП на фоне СД 2-го типа отмечается резкое повышение процессов окислительной модификации белков. Лечение больных позитивно влияет на процесс окисления биомолекул, особенно для индуцированного процесса, что указывает на повышение стойкости белков до пероксидации.

Ключевые слова: сахарный диабет, хронический пиелонефрит, оксидантный стресс.

Введение

В настоящее время сахарный диабет (СД) продолжает оставаться одной из наиболее важных проблем мировой медицины и здравоохранения [2, 8]. Инфекционные воспалительные заболевания почек и мочевыводящих путей встречаются у 25 % больных с СД. Обострение хронического пиелонефрита, как и любой другой патологический процесс, протекает на фоне образования активных форм кислорода (АФК) и интенсификации свободнорадикального окисления биосубстратов. Также к одним из важнейших патогенетических звеньев развития СД и его осложнений относят длительную хроническую гипергликемию, которая является пусковым механизмом в инициации оксидантного стресса (ОС) [1, 5, 11].

Считается, что ОС во время атаки АФК в первую очередь подвергаются белки плазматических мембран, которые, в свою очередь, являются потенциальными стимуляторами перекисного окисления липидов (ПОЛ). В серии исследований процесс окислительной модификации белков (ОМБ) рассматривается как один из возможных факторов инактивации ферментов и изменения структурной организации в состоянии ОС [3]. Подтверждением первичности ОМБ является наличие явных изменений при ОС в области анулярных липидов, что

говорит о ведущей роли окисления белков в деструкции клеточной мембраны [7]. Ишемические изменения в органах и тканях сопровождаются гиперактивацией свободнорадикальных процессов и нарушением функционально-структурной организации биомембран [3].

Защиту тканей от действия АФК при ОС осуществляют ферментные системы. К специфическим антиоксидантным ферментам можно отнести супероксиддисмутазу (СОД), каталазу, глутатионзависимые пероксидазы и трансферазы. Спонтанное окисление белков характеризует окислительный потенциал организма, а стимулированное характеризует степень резервно-адаптационных возможностей организма [9, 10].

Таким образом, ОМБ играет ключевую роль в молекулярных механизмах ОС, а ОС является важной цепочкой многих патологических процессов в организме при различных заболеваниях и требует дальнейшего изучения.

Целью нашей работы является оценка степени ОС и состояния антиоксидантной системы у пациентов с обострением хронического пиелонефрита (ХП) на фоне СД 2-го типа.

© Манищенко Ю.А., Шкала Л.В., Дудич Т.И.,
Литвинова М.И., Иванова М.А., 2013

© «Международный эндокринологический журнал», 2013
© Заславский А.Ю., 2013

Материалы и методы исследования

Под клиническим наблюдением находились 88 больных с обострением ХП на фоне СД 2-го типа в возрасте от 43 до 80 лет. Средний возраст больных составил $65,4 \pm 2,3$ года. Большинство пациентов составили женщины — 79,5 %, мужчин было 20,5 %. Наблюдение больных пожилого возраста объясняется тенденцией преобладания СД 2-го типа в популяции. У 20,5 % больных СД 2-го типа был выявлен впервые, у 39,8 % давность заболевания составила 1–5 лет, у 13,6 % — 5–10 лет, у 26,1 % — более 10 лет. ХПН у 60,2 % у больных был в анамнезе в течение 1–5 лет, у 20,5 % — 5–10 лет, и 19,3 % больных имели жалобы, но никогда не обращались за специализированной помощью. Наблюдение и лечение проводились на базе эндокринологического стационара многопрофильной больницы № 5 г. Луганска.

Диагноз устанавливали на основании данных анамнеза, клинических проявлений, лабораторных и инструментальных методов исследования. Всем пациентам проводили общеклинические и биохимические обследования. Анатомо-функциональное состояние почек исследовали с помощью ультразвукового метода.

Для исследования прооксидантного состояния, вызванного воспалительным процессом в почках, дополнительно проводили изучение ОМБ по методу Левина в модификации Дубининой [8]. У обследуемых больных кровь брали утром натощак. Как антикоагулянт использовали раствор гепарина. В сыворотке крови определяли степень спонтанного и металлокатализируемого окисления (МКО) белков. Метод оценки ОМБ основан на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином с образованием 2,4-динитрофенилгидразонов. Для регистрации ОМБ предварительно проводили их осаждения с помощью 20% раствора трихлоруксусной кислоты. Оптическую плотность образовавшихся динитрофенилгидразонов регистрировали на спектрофотометре UNICO 2800 при длинах волн 274 и 363 нм. Степень ОМБ выражали в единицах оптической плотности. На процессы перекисидации белков указывает накопление в исследуемом материале продуктов белковой деструкции в виде альдегидпроизводных (АДФГ) и кетопроизводных динитрофенилгидразонов (КДФГ), которые являются маркерами ОМБ. При определении ОМБ используются два показателя: спонтанная и индуцированная (металлокатализируемая) ОМБ. Первый показатель характеризует количество уже окисленных белков, второй указывает на количество субстрата для

окисления и возможность его вовлечения в эти процессы. Его можно рассматривать как показатель устойчивости системы к перекисидации.

Изучение антиоксидантной активности оценивали при помощи определения активности СОД, которую проводили методом аутоокисления адреналина [6]. Величины оптической плотности растворов регистрировали на спектрофотометре UNICO 2800 при длине волны 347 нм.

Контрольную группу составили доноры станции переливания крови без признаков воспалительных заболеваний мочеполовой системы.

Анализ полученных данных проводили методом математической обработки с использованием стандартного пакета программ с определением критерия Стьюдента.

Исследуемые больные были разделены на две группы. Первая группа (43 пациента) получала так называемую базовую терапию, состоящую из антибактериального препарата ломефлоксацин (ломадей) 1 таблетка (0,4 г) 1 раз в сутки или цефтриаксон (лораксон, эмсеф) 1,0 внутримышечно 2 раза в сутки в течение 10 дней в зависимости от степени изменений мочевого синдрома, и сахароснижающую терапию. Вторая группа (45 пациентов) получала базовую антибактериальную терапию, сахароснижающую терапию, а также комбинацию препаратов канефрон Н по 50 капель или по 2 драже 3 раза в сутки внутрь независимо от приема пищи и тиотриазолин 2,5% раствор по 2,0 мл внутримышечно 1 раз в сутки ежедневно в течение двух недель.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ содержания продуктов спонтанной ОМБ в сыворотке больных обеих групп до лечения показал значительное повышение уровня производных динитрофенилгидразонов, вероятно превышающий такой уровень в группе контроля (табл. 1). А именно: первая группа имела повышение АДФГ на 15,8 %, КДФГ — на 15,5 %, вторая группа — на 18,8 и 17,4 % соответственно.

После лечения наблюдалось снижение уровня спонтанного окисления белков как в первой, так и во второй группе, однако показатели первой группы снизились меньше, чем во второй группе. Так, показатели АДФГ первой группы стали ниже на 5,64 %, а второй группы — на 7,25 %. Значение КДФГ первой группы уменьшились на 4,08 %, второй — на 6,84 %. Под влиянием

Таблица 1. Спонтанная ОМБ сыворотки крови у больных, E

	До лечения		После лечения	
	АДФГ	КДФГ	АДФГ	КДФГ
Контроль	$0,224 \pm 0,002$	$2,174 \pm 0,006$	–	–
Группа 1	$0,266 \pm 0,003$	$2,574 \pm 0,025$	$0,251 \pm 0,003^*$	$2,469 \pm 0,026^*$
Группа 2	$0,276 \pm 0,002$	$2,632 \pm 0,026$	$0,256 \pm 0,002^*$	$2,452 \pm 0,030^*$

Примечание: * — достоверность результатов относительно группы контроля, $p < 0,05$.

анием лечения наблюдалось достоверное снижение уровня АДФГ и КДФГ, что связано с более эффективным функционированием системы антиоксидантной защиты. Спонтанное окисление белков в сыворотке у пациентов с обострением ХП на фоне СД 2-го типа сопровождается увеличением содержания КДФГ, что является поздним маркером ОМБ и характеризует дальнейшее окисление белков. Также наблюдалось повышение АДФГ, образовавшегося на стадии инициации свободнорадикального окисления.

При оценке металлкатализируемой ОМБ было установлено весьма существенное увеличение степени деструкции белков. По сравнению с группой контроля первая группа имела увеличение АДФГ на 17,4 %, КДФГ — на 13,7 %, вторая группа — на 17,7 и 16 % соответственно (табл. 2).

После лечения уровень динитрофенилгидразонов в сыворотке крови пациентов снижался. В первой группе содержание АДФГ снизилось на 3,8 %, КДФГ — на 2,75 %. Во второй группе: АДФГ — на 10,2 %, КДФГ — на 13,9 %. После лечения в первой группе показатели АДФГ превышали показатели в группе контроля на 14,2 %, КДФГ — на 11,3 %, а во второй группе — на 8,4 и 2,4 % соответственно. При сравнении показателей спонтанной и металлкатализируемой ОМБ уровень продуктов металлкатализируемого окисления для второй группы после лечения был значительно ниже, чем в первой группе.

Полученные данные свидетельствуют о более отчетливом положительном эффекте лечения пациентов второй группы, в которой была применена комплексная терапия, включающая комбинацию канефрона Н и тиотриазолина. При оценке металлкатализируемой ОМБ сыворотки крови было установлено существенное увеличение степени деструкции белков (повышение как АДФГ, так и КДФГ), что указывает на количество субстрата для окисления и возможность его вовлечения в эти процессы.

Для оценки состояния антиоксидантных систем организма была проанализирована активность ключевого фермента антиоксидантной защиты — СОД.

В начале лечения активность СОД у пациентов первой и второй группы значительно не различалась, но была повышена в сравнении с группой контроля в 2,22 (первая группа) и 2,21 (вторая группа) раза (табл. 3).

После лечения наблюдалось снижение активности СОД как в первой, так и во второй группе, однако показатели первой группы изменились меньше, чем показатели второй. Так, показатели СОД первой группы снизились на 20,77 %, второй группы — на 37,16 %. Но, несмотря на снижение показателей, активность СОД в обеих группах осталась выше показателей группы контроля. Так, в первой группе активность СОД превысила контроль в 1,76 раза, а во второй — в 1,39 раза.

Полученные данные свидетельствуют о более эффективном лечении пациентов второй группы, в лечебный процесс которой была включена комбинация препаратов канефрон Н и тиотриазолин.

Выводы

1. В сыворотке крови больных с обострением ХП на фоне СД 2-го типа отмечается резкое повышение процессов ОМБ, как спонтанного, так и индуцированного. Это связано как с увеличением уровня активных форм кислорода в связи с воспалительным процессом, так и с понижением активности антиоксидантной системы организма.

2. Лечение больных благоприятно влияет на процесс окисления биомолекул, особенно для индуцированного процесса, что указывает на повышение устойчивости белков к перекисидации. Установлено, что дополнительное использование комбинации препаратов канефрон Н и тиотриазолин оказывает существенное влияние на этот процесс, улучшая метаболическое состояние пациента.

3. При обострении хронического ХП на фоне СД 2-го типа отмечается повышение активности СОД, что связано с активацией прооксидантных процессов. Дополнение базовой терапии препаратами канефрон Н и тиотриазолин оказывает угнетающее действие на прооксидантный процесс и уменьшает нагрузку на антиоксидантную систему организма, а именно на активность СОД.

Таблица 2. Металлкатализируемая ОМБ сыворотки крови у больных, E

	До лечения		После лечения	
	АДФГ	КДФГ	АДФГ	КДФГ
Контроль	0,218 ± 0,001	2,167 ± 0,008	–	–
Группа 1	0,264 ± 0,003	2,512 ± 0,028	0,254 ± 0,003*	2,443 ± 0,038*
Группа 2	0,265 ± 0,002	2,579 ± 0,028	0,238 ± 0,003*	2,220 ± 0,055*

Примечание: * — достоверность результатов относительно группы контроля, $p < 0,05$.

Таблица 3. Активность СОД, ед. активности

	До лечения	После лечения
Контроль	35,43 ± 0,57	–
Группа 1	78,52 ± 1,09	62,21 ± 1,26*
Группа 2	78,64 ± 1,08	49,42 ± 1,29*

Примечание: * — достоверность результатов относительно группы контроля, $p < 0,05$.

Список литературы

1. Балаболкин М.И. Диабетическая невропатия / М.И. Балаболкин, В.М. Кремская // Журн. неврол. и психиатр. — 2000. — № 10. — С. 57-64.
2. Дедов И.И. Сахарный диабет у детей и подростков: Рук. для врачей / И.И. Дедов, Т.Л. Кураева, В.А. Петеркова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 160 с.
3. Динаміка вмісту продуктів окислювальної модифікації білків під час тривалої ішемії нижньої кінцівки на фоні застосування мезенхімальних стовбурових клітин в експерименті / І.В. Шипілова, П.Е. Голубков, В.В. Орлова, М.В. Горлов, Г.Є. Залівадна // Зб. доповідей III регіональної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів «Актуальні проблеми сучасної фармації та медицини в теорії та практиці» 22 березня 2007 р.
4. Колесник Н.А. Почки и диабет: от понимания проблемы к своевременной и адекватной терапии // Здоров'я України. — 2009. — № 13-14. — С. 13-15.
5. Окислительный стресс у больных сахарным диабетом типа 2 с различной длительностью заболевания и разной степенью компенсации углеводного обмена / М.А. Панкратова, С.В. Пирожков, М.И. Балаболкин, П.Ф. Литвицкий // Сахарный диабет. — 2006. — № 2. — С. 12-15.

6. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопросы медицинской химии. — 1999. — № 31. — С. 3-14.

7. Церебропротекторные эффекты антиоксидантов при нейроиммуноэндокринных нарушениях, обусловленных токсическим действием кислородных радикалов / В.В. Дунаев, Ю.И. Губский, И.Ф. Беленичев и др. // Совр. пробл. токсикол. — 2004. — № 1. — С. 7-13.

8. Bloomgarden Z.T. Type 2 diabetes in the young: the evolving epidemic // Diabetes Care. — 2004. — T. 27. — P. 998-1010.

9. Effect of recombinant human growth hormone on the muscle strength response to resistance exercise in elderly men / D.R. Taffe, I. Pruitt, J. Reim [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1974. — Vol. 79. — P. 1361-1366.

10. Inhibition of spontaneous leukemias in F-344 rats by tetramethylthiuram disulfide (Thiram) / M. Takahashi, T. Kokubo, F. Furukawa [et al.] // Gann. — 1983. — Vol. 74. — P. 810-813.

11. Oxidative Stress and Stress-Activated Signaling Pathways: A Unifying Hypothesis of type 2 / J.L. Evans, I.D. Goldfine, B.A. Maddux, G.M. Grodsky // Diabetes. Endocrine Reviews. — 2002. — № 23(5). — P. 599-622.

Получено 20.04.13 □

Маніщенко Ю.О., Шкала Л.В., Дудіч Т.І.,
Литвинова М.І., Іванова М.А.
ДЗ «Луганський державний медичний університет»

ОКСИДАНТНЫЙ СТРЕС У ХВОРИХ НА ЦУКРОВЫЙ ДИАБЕТ 2-ГО ТИПУ, ПОЕДНАНИЙ ІЗ ЗАГОСТРЕННЯМ ХРОНІЧНОГО ПІЄЛОНЕФРИТУ

Резюме. У статті наведена інформація щодо стану окислювально-відновлювального процесу при загостренні хронічного пієлонефриту у хворих на цукровий діабет (ЦД) 2-го типу. **Мета дослідження** — оцінка ступеня оксидантного стресу (ОС) і стану антиоксидантної системи у пацієнтів із загостренням хронічного пієлонефриту (ХП) на фоні ЦД 2-го типу. **Матеріали і методи.** Під клінічним спостереженням перебувало 88 хворих на ХП на фоні ЦД 2-го типу віком від 43 до 80 років. Перша група хворих отримувала терапію ломефлоксацином або цефтріаксоном і цукрознижувальні препарати. Друга група отримувала антибактеріальну і цукрознижувальну терапію, а також комбінацію препаратів канефрон Н і тіотриазолін. **Результати дослідження.** У хворих із коморбідною патологією загострення ХП супроводжується більш вираженими прооксидантними процесами. Додавання до антибактеріальної та цукрознижувальної терапії комбінації препаратів канефрон Н та тіотриазолін підвищує ефективність лікувального процесу та позитивно впливає на стан окислювально-відновлювального потенціалу організму. **Висновки.** У сироватці крові хворих на ХП на фоні ЦД 2-го типу відзначається різке підвищення процесів окисної модифікації білків. Лікування хворих позитивно впливає на процес окислення біомолекул, особливо для індукованого процесу, що вказує на підвищення стійкості білків до пероксидації.

Ключові слова: цукровий діабет, хронічний пієлонефрит, оксидантний стрес.

Manischenkova Yu.A., Shkala L.V., Dudich T.I.,
Litvinova M.I., Ivanova M.A.
State Institution «Lugansk State Medical University», Lugansk

OXIDATIVE STRESS IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE 2 ASSOCIATED WITH EXACERBATION OF CHRONIC PYELONEPHRITIS

Summary. The article presents information on the state of the oxidation-reduction process in exacerbation of chronic pyelonephritis (CP) in patients with diabetes mellitus (DM) type 2. **The objective of the study** — evaluation of the degree of oxidative stress (OS) and the state of the antioxidant system in patients with exacerbation of chronic pyelonephritis due to DM type 2. **Materials and Methods.** Under clinical supervision there were 88 patients with CP against DM type 2 background aged from 43 to 80 years. The first group of patients received therapy with lomefloxacin or ceftriaxone, as well as hypoglycemic agents. Another group received antibiotic and glucose-lowering therapy, as combination of canephron H and thiotriazoline. **The Results of the Study.** In patients with comorbid disorders, CH exacerbation are associated with more significant prooxidant processes. Adding to antibiotic and glucose-lowering therapy the combination of canephron H and thiotriazoline increases the efficiency of the treatment process and has a positive effect on the state of oxidation-reduction potential of the body. **Conclusions.** In blood serum of patients with CP against DM 2 we noted been a sharp increase in the processes of oxidative modification of proteins (MBP). Treatment of patients has a positive effect on the process of biomolecules oxidation, particularly for the induced process, that indicates increased resistance of proteins to peroxidation.

Key words: diabetes mellitus, chronic pyelonephritis, oxidative stress.