

УДК: 616.61-002.151-052

СЕЛЕН И СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ У БОЛЬНЫХ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

А.Ю. Мартыненко¹, Ю.Г. Ковальский¹, Г.С. Томилка¹, О.А. Лебедько¹,
Н.А. Голубкина², Е.Г. Рябцева¹, Т.В. Мжельская³

¹ФГБОУВО Дальневосточный государственный медицинский университет,
г. Хабаровск,

²ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и се-
меноводства овощных культур, г. Москва,

³ФБУН хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзо-
ра, г. Хабаровск

Обследовано 23 больных ГЛПС, средний возраст которых составил $37,4 \pm 4,05$ лет. У всех больных параллельно определялись уровни селена в сыворотке крови и показатели свободно-радикального окисления (СРО) методом биохемилюминесценции. Выяснено, что в периоде ранней апирекии у больных ГЛПС отмечалось достоверное снижение уровня селена в сравнении с периодом поздней реконвалесценции и контролем. В то же время концентрация селена в периоде поздней реконвалесценции достоверно не отличалась от контроля. Были выявлены достоверные обратные средней силы корреляционные связи между уровнем селена в сыворотке крови и показателями СРО, отражающими интенсивность процессов образования свободных радикалов в сыворотке крови.

Ключевые слова: селен, свободные радикалы, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом

SELENIUM AND FREE RADICAL OXIDATION IN PATIENTS SUFFERING FROM HEMORRHAGIC FEVER WITH RENAL SYNDROME

A.Yu Martinenko¹, Yu.G. Kovalskiy¹, G.S. Tomilka¹, O.A. Lebedko¹, N.A.
Golubkina², E.G. Ryabtseva¹, T.V. Mzhelskaya³

¹State-Financed Educational Institution of the Higher Professional Education «Far
Eastern State Medical University», Khabarovsk, Russia;

²Federal State Funded Research Institution All-Russian Institute for Selection and
Seed-Breeding of Vegetables, Moscow, Russia

³Federal State Institution of Science State Khabarovsk research institute of epi-
demiology and microbiology of Federal service for surveillance on customer rights pro-
tection and human wellbeing (Rosпотребнадзор), Khabarovsk, Russia

Twenty-three patients with median age of $37,4 \pm 4,05$ suffering from hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) were studied. All patients were examined for the levels of selenium in the blood serum and free radical oxidation (FRO) indices with the biochemoluminescence method. The tests revealed that during the period of early apyrexia in patients with HFRS was registered significant decrease of selenium level in blood serum as compared to the period of late convalescence and control group.

At the same time, there were no significant difference between selenium concentration during the period of late convalescence and in the control group. The research revealed significant moderate inverse correlation between the level of selenium in blood serum and FRO indices. This finding reflects intensity of the process of free radical oxidation in the blood serum.

Key words: selenium, free radicals, hemorrhagic fever with renal syndrome

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) является одной из наиболее часто встречающихся в практике врачей различных специальностей природно-очаговых заболеваний юга Хабаровского края [4, 6]. Актуальность изучения ГЛПС определяют не только широкое распространение этой нозологической формы, но также и тяжесть течения, характерная для Дальневосточного региона России [3].

Несмотря на значительное количество статей, опубликованных по проблеме ГЛПС как в России, так и за рубежом многие вопросы патогенеза, дифференциальной диагностики, прогноза развития специфических осложнений, лечения остаются недостаточно изученными. Одним из перспективных направлений дальнейшего изучения патогенеза ГЛПС является исследование уровня селена и процессов свободно-радикального окисления (СРО) в биологических жидкостях организма человека с использованием биохемилюминесценции (БХЛ). Селен – микроэлемент, входящий в состав активных центров ряда антиоксидантных ферментов [7], обуславливает защиту клетки от СРО. В настоящее время установлено, что селен имеет первостепенное значение в защите организма от оксидативного стресса, недостаточность селена вызывает серьезные нарушения в сердечно-сосудистой, иммунной, эндокринной, нервной и других системах организма [7, 11, 12], с недостатком потребления селена связано развитие около 40 заболеваний, включая онкологические и сердечно-сосудистые [13]. Исследование показателей оксидативного стресса показали важную роль СРО в патогенезе многих инфекционных заболеваний и критических состояниях, сопровождающих эти заболевания [2].

Целью нашей работы явилось изучение динамики концентрации селена и показателей БХЛ сыворотки крови больных ГЛПС при разных степенях тяжести и периодах заболевания для выявления взаимосвязей между ними.

Материалы и методы

Обследовано 23 больных ГЛПС (все мужчины) находившихся на стационарном лечении в клинике инфекционных болезней ДВГМУ. Возраст заболевших колебался от 20 до 50 лет и в среднем составил $37,4 \pm 4,05$ лет. У всех больных диагноз был подтвержден серологическим методом (МФА) специалистами Хабаровской противочумной станции (директор – к.м.н. А.Г. Ковальский).

Исследовалась сыворотка в периоде ранней апирекии (5-10 день заболевания) и в периоде поздней реконвалесценции (21-29 день болезни) [8].

Оценка степени тяжести проводилась с помощью разработанных нами оценочных таблиц [5]. Тяжелая форма ГЛПС отмечена у 10 больных, среднетяжелая – у 13 заболевших.

Уровень селена в сыворотке крови определяли флуориметрическим методом [9,10], с применением в каждой серии определений реферанс-стандартов сыворотки крови N-23КТ (Nippan Co, Oslo) с регламентированным содержанием Se 88 мкг/л. Исследования содержания селена проводили совместно с сотрудниками лабораторно-аналитического центра ФГБНУ Всероссийского научно-исследовательского института селекции и семеноводства овощных культур (г. Москва). Для интегральной оценки процессов СРО в сыворотке крови использовали метод БХЛ, регистрацию осуществляли на люминесцентном спектрометре LS 50B «PERKIN ELMER». Стандартизацию сигнала и математическую обработку кривых БХЛ выполняли с помощью встроенной программы «Finlab». При исследовании спонтанной и индуцированной Fe^{2+} БХЛ определяли: светосумму за 1 мин. спонтанной БХЛ ($S_{сн}$), величина которой прямо коррелирует с интенсивностью свободно-радикальных процессов; максимум быстрой вспышки (H_1) индуцированной БХЛ, свидетельствующей о содержании гидроперекисей липидов; светосумму за 4 мин. индуцированной БХЛ ($S_{инд. 1}$), отражающей скорость образования перекисных радикалов. Кинетику БХЛ, индуцированную H_2O_2 в присутствии люминола [1] анализировали по двум параметрам: максимуму свечения (H_2), указывающему на потенциальную способность биологического объекта к перекисному окислению, и светосумме за 2 мин. БХЛ ($S_{инд. 2}$), величина которой свидетельствует об активности антиоксидантной защиты. Интенсивность БХЛ, измеренную в милливольтках, рассчитывали на 1 мл сыворотки и выражали в относительных единицах.

Группу контроля составили 30 здоровых людей, которые достоверно не отличались от исследуемой группы по половому и возрастному составу.

Полученные данные обрабатывались с использованием программы Microsoft Office Excel 2010, Statistica 6.03. Вычисляли: средний показатель (M), среднее квадратическое отклонение (SD), доверительный интервал (ДИ). Достоверность различий между средними величинами оценивали с помощью критерия Манна-Уитни, определение связи между непараметрическими величинами - методом корреляционного анализа по Спирмену. Критический уровень значимости при проверке гипотез - $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В периоде ранней апирекии у всех больных ГЛПС отмечалось снижение концентрации селена в сыворотке крови. Уровень селена колебался от 41 до 73 мкг/л, составив в среднем $56,3 \pm 2,73$ мкг/л. В периоде поздней реконвалесценции концентрация селена в сыворотке крови возросла практически в 1,5 раза и составила в среднем $89,22 \pm 7,69$ мкг/л (размах колебания от 67 до 132 мкг/л) (табл. 1).

Таблица 1

Динамика концентрации селена в сыворотке крови у больных ГЛПС в зависимости от периода заболевания в сравнении с контролем

Периоды ГЛПС	Ранней апирекии	Поздней реконвалесценции	Контроль
Концентрация селена (мкг/л)	56,3±2,73 ^{*/**}	89,22±7,69 ^{**}	81,20±1,90

* - различие достоверно ($p < 0,05$) в сравнении с контролем;

** - различие достоверно ($p < 0,05$) в сравнении уровня селена в периоде ранней апирекии и периоде поздней реконвалесценции.

Корреляционный анализ выявил недостоверную слабую обратную связь между концентрацией селена в сыворотке крови и степенью тяжести ГЛПС (-0,16), а также достоверную среднюю прямую связь между уровнем селена и днем болезни.

Параллельно, у этих же больных ГЛПС были определены показатели СРО (таблица 2).

Таблица 2

Динамика показателей СРО у больных ГЛПС в зависимости от периода заболевания

Периоды ГЛПС	Ранней апирекии	Поздней реконвалесценции	Контроль
$S_{\text{сп.}}$	0,1731±0,0129 ^{*/**}	0,1277±0,0155 ^{*/**}	0,084±0,0064
индуцированной $Fe^{2+}(H_1)$	0,1566±0,0217	0,1187±0,00201 [/]	0,158±0,0133
индуцированной $Fe^{2+}(S_{\text{инд. 1}})$	0,3566±0,0384 [*]	0,264±0,0337 [/]	0,128±0,0159
индуцированную $H_2O_2(H_2)$	0,3731±0,037 ^{*/**}	0,1982±0,023 ^{*/**}	0,206±0,0137
индуцированную $H_2O_2(S_{\text{инд. 2}})$	0,4651±0,036 ^{*/**}	0,2593±0,0319 ^{*/**}	0,194±0,0149

* - различие достоверно ($p < 0,05$) в сравнении с контролем;

** - различие достоверно ($p < 0,05$) в сравнении показателя СРО в периоде ранней апирекии и периоде поздней реконвалесценции.

Как видно из данных, представленных в табл. 2, практически все показатели СРО у обследованных больных ГЛПС достоверно отличались от контроля. Кроме того, отмечалось достоверное различие в уровнях $S_{\text{сп.}}$ и индуцированной $H_2O_2(H_2)$ и $(S_{\text{инд. 2}})$ в периоде ранней апирекии в сравнении с периодом поздней реконвалесценции.

Следующим этапом нашего исследования явилось выявление взаимосвязи динамики концентрации селена в сыворотке крови больных ГЛПС и показателями СРО. В результате проведенного корреляционного анализа были выявлены достоверные средней силы обратные связи между уровнем селена и индуцированной $H_2O_2(H_2)$ (-0,4680) и $(S_{\text{инд. 2}})$ (-0,4087). Кроме того отмечены достоверные слабой силы связи между концентрацией селена и $S_{\text{сп.}}$ (-0,2746) и индуцированной $Fe^{2+}(S_{\text{инд. 1}})$ (-0,2614).

Выводы:

1. В сыворотке крови больных ГЛПС отмечалась интенсификация процессов свободнорадикального окисления и подавление антиоксидантной антирадикальной защиты.
2. В периоде ранней апирекии наблюдались низкие уровни селена в сыворотке крови, которые в периоде поздней реконвалесценции повышались в 1,5 раза и достоверно не отличались от контроля.
3. Выявлены достоверные средней силы обратные связи между уровнем селена и индуцированной $H_2O_2(H_2)$ и $(S_{\text{инд. 2}})$, а также достоверные слабой силы связи между концентрацией селена и $S_{\text{сп.}}$ и индуцированной $Fe^{2+}(S_{\text{инд. 1}})$ что свидетельствовало о взаимосвязи динамики концентрации селена и показателей СРО в сыворотке крови больных ГЛПС.

Литература

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: Мет. рек. - СПб. 2000. – 198с.
2. Виноградов Л.Ф., Мирзоян Ж.А. Регуляция антиоксидантами изменений экскреторной функции печени при вирусном гепатите В // Эксперим. и клин. фармакол. - 2003. - Т. 56, № 5. - С. 50-52.

3. Иванис В.А. Клинико-патогенетические аспекты геморрагической лихорадки с почечным синдромом в Приморском крае // Хантавирусы и хантавирусные инфекции – Владивосток. 2012. – С. 212-239.
4. Ковальский Г.С. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом. – Хабаровск, 1985. – 55 с.
5. Сидельников Ю.Н., Мартыненко А.Ю. Метод оценки тяжести течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом и его прогностическое значение. – Дальневосточный медицинский журнал. – 2003, № 4. – С. 23-26.
6. Сиротин Б.З. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом. – Хабаровск, 1994. – 302 с.
7. Селен в питании: растения, животные, человек / под ред. Н.А. Голубкиной, Т.Т. Папазяна. - М., 2006. - 255 с.
8. Шапиро С.Е., Ковальский Г.С. Вопросы патогенеза и классификации клинических форм и вариантов геморрагической лихорадки с почечным синдромом // Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом на Дальнем Востоке. – Хабаровск, 1968. – С. 169-176.
9. Alfthan G., Aro A. Environmental effects of selenium fertilization - Is there a potential risk? // Proc "Twenty Years of selenium Fertilization" Is Here a potencial risk? \ Proc "Twenty Years of selenium Fertilization" - sept. 8-9, Helsinki, Finland, 2005. Ed. M. Eurola. - P. 33-35.
10. Golubkina N.A. Fluorimetric method for the determination of selenium // J. of Analytical Chemistry. - 1995. - Vol. 50, № 5. - С. 492-497.
11. Mutakin P., Meiliana A., Wijaya A., et al. Association between selenium nutritional status and metabolic risk factors in men with visceral obesity // J. Trace Elem. Med. Biol. - 2013. - Vol. 27. - P. 112-116.
12. Nuve J. Selenium as a risk factor cardiovascular diseases // J. Cardiovasc. Risk. - 1996. - Vol. 3. - P. 42-47.
13. Schrauzer G.N. The nutritional significance, metabolism and toxicity of selenomethionine // Adv. Food. Nutr. Res. - 2003. - Vol. 47. - P. 73-76.

Сведения об авторах:

Ковальский Юрий Григорьевич – доктор медицинских наук. Профессор, заведующий кафедрой биологической химии и клинической лабораторной диагностики ГОУ ВПО ДВГМУ, ведущий научный сотрудник лаборатории клещевого энцефалита и других природно-очаговых инфекций ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора E-mail: kb_dv@mail.fesmu.ru
