

ЛАГОНСКАЯ ВЕРОНИКА НИКОЛАЕВНА

**АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ АНЕМИИ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ
ПОКАЗАТЕЛИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ ПРИ
ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК.**

03.01.04 – биохимия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Нижний Новгород

2011

Работа выполнена на кафедре клинической лабораторной диагностики ФПКВ в
Государственном образовательном учреждении Высшего профессионального образования
«Нижегородская государственная медицинская академия»

Научный руководитель:

доктор биологических наук, профессор **Конторщикова Клавдия Николаевна**

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор **Корягин Александр Сергеевич**

доктор медицинских наук, профессор **Бояринов Геннадий Андреевич**

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО "Марийский государственный университет"

Защита состоится «___» _____ 2011 года в «___» часов на заседании
диссертационного совета Д 212.166.15 при Нижегородском государственном
университете им. Н.И. Лобачевского по адресу: 603950, г. Нижний Новгород, пр.
Гагарина, д.23.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Нижегородского государственного
университета им. Н.И. Лобачевского

Автореферат разослан «___» _____ 2011 года

Ученый секретарь

Диссертационного совета

кандидат биологических наук

С.В.Копылова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

До недавнего времени медицинское сообщество не считало анемию серьезным и широко распространенным заболеванием, однако данные Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), Национального центра медицинской статистики США и многочисленные исследования показали, что анемия является состоянием, требующим повышенного внимания (Чернов, 2004). Анемия и анемический синдром – наиболее часто встречающаяся в практике врача любой специальности патология системы крови, составляющая почти 60% (Тейлор, 1992). Частота анемии чрезвычайно велика: предположительно ею страдают от 10 до 25% населения земного шара (Бокарев и др., 2006).

Вне зависимости от формы анемии и причины ее развития, результатом заболевания является недостаточное обеспечение организма кислородом, т.е. хроническая гипоксия (Погорелов и др., 2004). Изменения в организме при хронической кислородной недостаточности характеризуются сочетанием механизмов приспособления, адаптации к изменившимся условиям существования и патологических явлений, вызванных длительным кислородным голоданием тканей и органов. Наиболее чувствительны к кислородной недостаточности центральная нервная система, мышца сердца, ткани почек и печени.

Анемия оказывает нежелательное влияние на качество жизни больных, вызывает снижение работоспособности и толерантности к физической нагрузке. Более того, анемия у больных СД, хроническим гломерулонефритом и циррозом печени позволяет предсказать повышенный риск неблагоприятных осложнений и, по-видимому, сама по себе способствует прогрессированию микро- и макроангиопатии. Тем не менее, врачи обычно не придают особого значения анемии у таких пациентов (Stevens et al., 2003).

Гипоксия, вызванная анемией, занимает одно из ведущих мест в развитии осложнений и прогрессировании хронических заболеваний печени и почек и является одной из причин, усугубляющих поражение органов мочевой системы и печени.

Гипоксия не только осложняет течение заболевания, но и определяет его исход, т.к. наиболее типичной реакцией на длительное кислородное голодание является, по-видимому, разрастание в органах соединительной ткани, которое требует значительно меньших энергетических затрат, чем обновление паренхиматозной ткани. В зависимости от тяжести и (или) длительности гипоксического воздействия приводит к комплексу функционально-метаболических нарушений в клетке. Эти изменения сопровождаются нарушением работы митохондриальных ферментных комплексов, которые, в конечном счете, приводят к подавлению аэробного синтеза энергии, энергозависимых функций и метаболизма клеток (Архипенко, 1997; Васин, Королева, 1999; Лукьянова, 2000). При анемии ткани испытывают хроническую гипоксию, которая дает митогенные и фиброгенные эффекты, а также модифицирует экспрессию генов, регулирующих

ангиогенез и проницаемость капилляров, вазомоторный ответ, гликолиз, апоптоз клеток и т.д. (Deicher, Horl, 2003). Кроме того, анемия вызывает активацию симпатической и ренин-ангиотензивной системы, которая способствует развитию протеинурии и артериальной гипертензии у больных с хроническими нефропатиями (Fine, et al., 2000; Милованов и др., 2006).

При гипоксии выявляются признаки парциального или тотального нарушения функций печени и почек: расстройства обмена веществ (углеводного, липидного, белкового, витаминов); нарушения антитоксической функции, угнетение образования различных веществ (например, факторов системы гемостаза, коферментов, мочевины, жёлчных пигментов и др.) (Гарбузенко, 2007).

Осложнения при поражении печени и почек вследствие гипоксии вызывают в настоящее время значительный интерес, но, несмотря на большое количество работ в данной области, существуют нерешенные или недостаточно изученные проблемы, в том числе влияние гипоксии на состояние и функции органов, в частности почек и печени, недостаточно исследовано. Актуальность данной темы и необходимость дальнейших исследований в этой области позволила сформулировать цель и задачи.

Цель исследования

Изучить распространенность анемии и выявить ведущие патофизиологические особенности у больных хроническим гломерулонефритом, сахарным диабетом I типа, циррозом печени. Изучить влияние анемии на изменения биохимических показателей крови у больных с исследуемыми заболеваниями.

Задачи исследования

1. Установить частоту встречаемости анемий по данным общего анализа крови у обследуемых лиц с циррозом печени, хроническим гломерулонефритом, сахарным диабетом.
2. Проанализировать взаимосвязь морфологического типа анемии с показателями обмена железа.
3. Определить уровень основных метаболических показателей, имеющих патогенетическое значение в возникновении анемии.
4. Оценить роль дефицитных факторов в развитии анемии у лиц с разной терапевтической патологией, оценить частоту анемий, обусловленных дефицитом метаболических факторов.
5. Обосновать объем лабораторного обследования больных соматическими заболеваниями при наличии анемии.

Научная новизна

Впервые проведен дифференцированный анализ нарушений функций почек у людей, страдающих сахарным диабетом I типа, хроническим гломерулонефритом и печени, у больных циррозом печени в зависимости от снижения уровня гемоглобина.

На основании результатов биохимических исследований установлена одна из ведущих ролей поражений канальцевого и клубочкового аппарата почек и гепатоцитов печени и нарушении функций органов в результате гипоксии вследствие анемии.

Теоретическая и практическая значимость работы

В общетеоретическом плане выполненная работа позволяет расширить представления о патогенезе анемии при заболеваниях печени и почек, характеризует изменения метаболических показателей у больных хроническим гломерулонефритом, сахарным диабетом I типа, циррозом печени в результате воздействия гипоксии, вызванной анемией.

Предложен алгоритм клинических и биохимических исследований для оценки анемии у больных с исследуемыми заболеваниями печени и почек. Полученные результаты и выводы могут использоваться в учебном процессе на кафедре клинической лабораторной диагностики факультета повышения квалификации врачей НижГМА.

Положения, выносимые на защиту

1. Гипоксия, вызванная анемией, влияет на изменения биохимических показателей крови и мочи у лиц с патологией печени и почек.

2. Изменения уровней активности ферментов в сыворотке крови являются биохимическими маркерами повреждений канальцевого и клубочкового эпителия аппарата почек и гепатоцитов печени, вызванных гипоксией в результате анемии.

3. Нарушение клубочковой фильтрации отражает степень гипоксического поражения проксимальных и дистальных канальцев почек при хроническом гломерулонефрите и сахарном диабете.

Апробация работы

Результаты работы доложены на международной конференции г. Ереван, Армения (октябрь, 2010г), на конференции молодых ученых, Н.Новгород (март, 2011г), расширенном заседании кафедры клинической лабораторной диагностики (июнь, 2011г).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 6 статей и тезисов докладов региональных и международных конференций, из них 2 работы в ведущих отечественных журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа в объеме 141 листа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, собственных результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитированной литературы.

Библиографический указатель включает 214 источника литературы (121 отечественных и 93 иностранных). Диссертация иллюстрирована 30 таблицами и 32 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа выполнялась на базе областной клинической больницы им. Н.А. Семашко (главный врач - Зайцев Р.М.), в период с 2007 по 2011 год. Анализировалась кровь больных сахарным диабетом I типа, хроническим гломерулонефритом, циррозом печени, поступивших на лечение. Диагнозы выставлялись лечащими врачами. Все пациенты подписали предварительное согласие на участие в исследовании, одобренном этическим комитетом академии.

Для изучения распространенности анемии среди выбранных заболеваний проанализированы архивные данные больных, поступивших в стационар в эндокринологическое, нефрологическое и гастроэнтерологическое отделения за 2006 г.

Обследовано 165 человек. В основную группу вошли 96 пациентов с наличием анемии в общем анализе крови. Основная группа, в свою очередь, была поделена на три группы в соответствии с поставленным диагнозом: больные сахарным диабетом I типа – 32 пациента (мужчин – 9, женщин – 23), средний возраст больных составил 37 ± 17 лет; больные циррозом печени – 38 пациентов (мужчин – 14, женщин – 24), средний возраст больных – 49 ± 18 лет; больные хроническим гломерулонефритом – 26 пациентов (мужчин – 11, женщин – 15), средний возраст – 42 ± 24 года.

Группу сравнения составили больные с теми же диагнозами, но неотягощенные анемией: больные сахарным диабетом I типа – 20 пациентов (мужчин – 10, женщин - 10), средний возраст больных составил 41 ± 18 лет; больные циррозом печени – 20 пациентов (мужчин – 11, женщин – 9), средний возраст больных – 51 ± 18 лет; больные хроническим гломерулонефритом – 29 пациентов (мужчин – 11, женщин – 18), средний возраст – 44 ± 23 года.

Для статистического анализа было использовано деление на группы по степени тяжести анемии, по степени тяжести основного заболевания и зависимости исследуемых показателей от степени тяжести анемии.

С целью выявления анемии и определения степени ее выраженности у всех обследуемых лиц оценивались показатели гемоглобина и эритроцитов в общем анализе крови. Исследования общего анализа крови выполнялись на гематологическом анализаторе Cell-Dyn 3700 производства фирмы АВВОТ, США. Концентрация **гемоглобина** измерялась колориметрическим методом, результаты выражались в г/л.

Для дифференциации анемии использовались такие показатели как: **средний объем клетки (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH)**.

Для оценки обмена железа и установления патогенетического варианта анемии у всех обследуемых исследовались: уровень сывороточного железа, общая железосвязывающая способность сыворотки (ОЖСС), уровень ферритина и трансферрина, степень насыщения трансферрина (TSAT), содержание эритропоэтина.

Исследование активности ферментов, характеризующих повреждение гепатоцитов включало:

- **аланинаминотрансфераза (АлАТ) и аспартатаминотрансфераза (АсАТ)**. При повреждении или разрушении клеток, богатых АлАТ и АсАТ (печень, мышца сердца и др.), происходит их выброс в кровяное русло, что приводит к повышению активности ферментов в крови. Измерение проводилось кинетическим методом.

- **гаммаглутаминтранспептидаза (ГГТП)**: этот фермент использовался как показатель, отражающий повреждение или повышение проницаемости мембран гепатоцитов и нефронов. ГГТП располагается в основном на мембранах клеток, обладающих высокой секреторной активностью — эпителиальных клетках, выстилающих желчные пути, печеночные канальца, проксимальные канальца нефрона. Исследование проводилось унифицированным методом по «конечной точке».

- **щелочная фосфатаза (ЩФ)** фермент, относящийся к группе фосфомоноэстераз, которые катализируют отщепление остатков фосфорной кислоты от её органических эфирных соединений. Щелочная фосфатаза содержится практически во всех тканях человеческого организма, особенно много ее обнаруживается в костной ткани, паренхиме печени и почек, предстательной, молочной железах, и клетках слизистой оболочки кишечника.

Активность всех ферментов измерялась в Е/л - международные единицы измерения активности ферментов.

Для оценки экскреционной функции печени определялся уровень **билирубина** (унифицированный метод Йендрашика – Грофа с использованием диазофенилсульфаниловой кислоты).

Для оценки функции клубочкового аппарата почек исследовался уровень **мочевины** – это основной конечный продукт белкового обмена, который синтезируется в печени. Мочевина является важным показателем выделительной способности почек. Исследование проводилось ферментативным методом с использованием уреазы в качестве катализатора.

Определение уровня **креатинина** проводилось кинетическим методом по Яффе без предварительной депротеинизации.

Для изучения фильтрационной способности почек у больных сахарным диабетом и хроническим гломерулонефритом использовался тест для определения скорости клубочковой фильтрации. **СКФ** – это объем ультрафильтрата или первичной мочи,

образующийся в почках за единицу времени. СКФ определялась расчетным методом Кокрофта-Голта.

Для оценки синтезирующей функции печени и для оценки нарушений почечного фильтра у больных определялись уровни **общего белка и альбумина**.

Для определения уровня **глюкозы** в сыворотке крови больных сахарным диабетом использовался энзиматический колориметрический метод.

Определение гликированного гемоглобина HbA_{1c} проводилось колориметрическим методом, на анализаторе Bio – Rat (USA).

Определение содержания общего **белка в моче** проводили колориметрическим методом на основе реакции с *пирогалловым красным*.

С-реактивный белок (СРБ) определяли полуколичественным методом латекс-агглютинации.

Состояние функции почек у больных сахарным диабетом I типа и хроническим гломерулонефритом оценивали согласно стадиям хронической болезни почек по рекомендациям National Kidney Foundation/Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF/DOQI) (NKF/DOQI, 2002).

Степень тяжести цирроза печени оценивали по шкале Чайльда-Пью (Child-Pugh).

Все биохимические исследования проводились на автоматическом биохимическом анализаторе Konelab PRIME 60 производства фирмы THERMO FISHER SCIENTIFIC (Финляндия) с использованием реагентов SENTINEL (Италия) и ProDia International (Германия).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы приложения Microsoft - Statistika 6,0. Были рассчитаны средние арифметические величины, стандартное отклонение, проведен частотный анализ. Для установления значимости различий между группами пациентов применялись критерий Mann-Whitney и χ^2 . В целях изучения взаимосвязей и зависимостей между показателями проводился корреляционный (по Пирсону) и регрессионный анализ с применением методов линейной и логистической регрессии.

РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анемия при сахарном диабете, хронической болезни почек и циррозе печени находится в прямой зависимости от пола и тяжести функционального класса заболевания.

Для изучения распространенности анемии, при таких заболеваниях как хронический гломерулонефрит, цирроз печени и сахарный диабет I типа, проанализированы архивные данные лиц, поступивших в стационар за 2006 год. В результате установлено, что из 172 человек госпитализированных с циррозом печени (64 мужчин и 108 женщин) анемия выявлена у 84 пациентов (48,8%). Следует отметить, что чаще анемия отмечалась у женщин и составила 75% (63 пациента), чем у мужчин – 25% (21 пациент). Из 293 больных сахарным диабетом I типа (136 мужчин и 157 женщин), анемия обнаружена у 68 пациентов (23,2%), из них – 56 женщин (82%) и 12 мужчин (18%)

Из 453 больных хроническим гломерулонефритом (286 мужчин и 167 женщин), анемия отмечалась у 137 пациентов (30,2%). Анемия в данном случае выявлена у 86 женщин (62,5%) и у 51 мужчины (37,5%).

По объему эритроцитов анемии в группе лиц с ХГН распределились следующим образом: микроцитарная анемия была диагностирована у 11 пациентов (42,3%), нормоцитарная анемия выявлена у 13 пациентов (50,0%) и макроцитарная анемия выявлена у 2 пациентов (7,7%).

У больных СД I типа, анемия, по показателю MCV, распределилась следующим образом: микроцитарная анемия была диагностирована у 21 пациента (65,6%), нормоцитарная анемия выявлена у 11 пациентов (34,4%).

У обследованных лиц с циррозом печени анемия по показателю MCV распределились так: микроцитарная анемия была диагностирована у 19 пациентов (50,0%), нормоцитарная анемия выявлена у 16 пациентов (42,1%), макроцитарная – у 4 больных (10,5%).

Полученные данные отображены на рис. 1

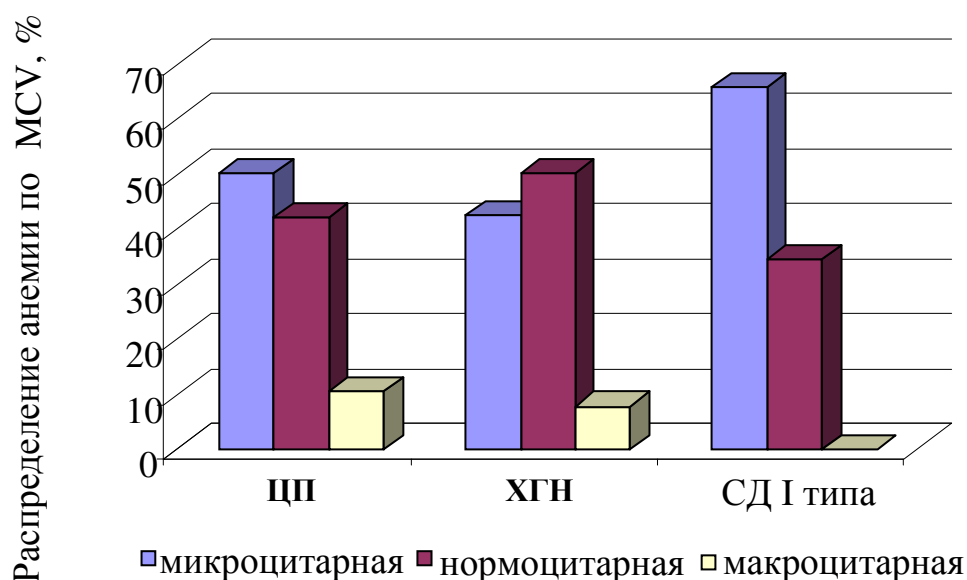


Рис.1. Распределение анемии у лиц, страдающих циррозом печени, хроническим гломерулонефритом и сахарным диабетом по изменению MCV.

При оценке показателей сывороточного железа, ОЖСС, ферритина, трансферрина, степени насыщения трансферрина у обследуемых людей с ЦП, ХГН и СД были выявлены следующие варианты анемии рис.2

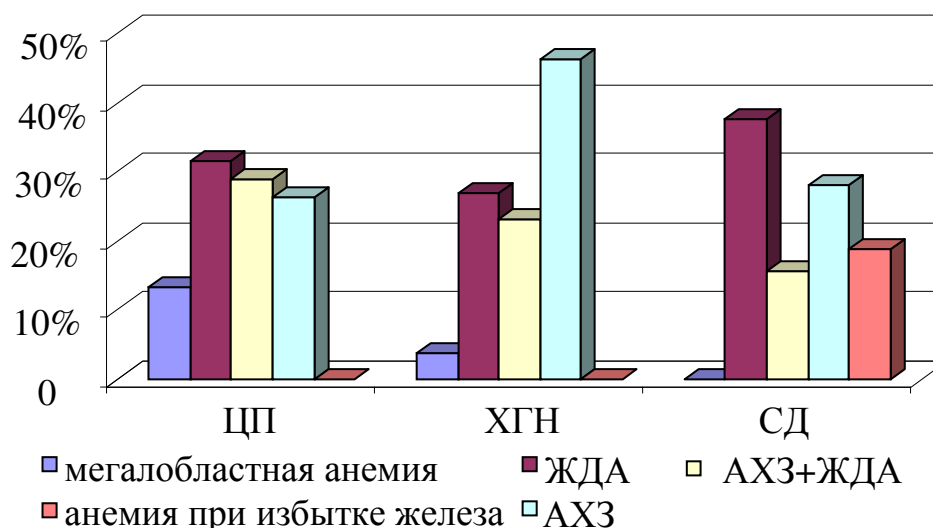


Рис.2. Структура анемии у лиц, страдающих циррозом печени, хроническим гломерулонефритом и сахарным диабетом. (Диагноз мегалобластной анемии был поставлен на основании пункции костного мозга).

В процессе изучения показателей обмена железа установлено, что при ХГН, СД и ЦП ведущее место принадлежит ЖДА и АХЗ. В группе больных сахарным диабетом у 18,8 % (n=6) анемия выявлена на фоне повышенного значения сывороточного железа (среднее значение составило $33,65 \pm 4,03$ мкмоль/л), что объясняется приемом препаратов железа.

Оценивая уровень ЭПО и его влияние на развитие анемии, получены следующие данные (Табл. 1).

Таблица 1

Изменение уровня эритропоэтина в зависимости от заболевания.

Диагноз	Наличие анемии		Уровень достоверности, критерий Манна-Уитни	
	Нет	Есть	Значение критерия	p
	M ± σ	M ± σ		
ЦП	14,80±9,20	55,79±83,90*	201,500	0,003
ХГ	13,27±6,01	14,13±6,99	329,000	0,418
СД	18,12±13,10	9,83±7,89*	157,500	0,002

* - различия между группами статистически значимые; $p \leq 0,05$.

У лиц страдающих циррозом печени с наличием анемии показатели ЭПО были достоверно выше, т.е. в ответ на дефицит кислорода в тканях почками усиливалась

выработка эритропоэтина. При хроническом гломерулонефрите показатели ЭПО в основной группе и группе сравнения практически не различались и находились в пределах нормы. Следует отметить, что концентрация ЭПО в основной группе в среднем составила $14,13 \pm 6,99$ МЕ/л, т.е. наблюдается отсутствие адекватного ответа ЭПО на гипоксию ($\chi^2=4,810$; $p=0,028$).

У больных сахарным диабетом в основной группе отмечено достоверное снижение (в 2 раза) ЭПО по сравнению с группой сравнения (диапазон колебаний ЭПО в основной группе составил 2,2 – 34,2 МЕ/л, в группе сравнения – 5,8 – 58,0 МЕ/л) ($\chi^2=7,73$; $p=0,005$).

Предположение о наличии неадекватной выработки ЭПО подтверждает выявленное нами отсутствие повышения концентрации эритропоэтина в сыворотке при снижении уровня гемоглобина, причем по мере нарастания ХПН и выраженности анемии, концентрация ЭПО в группе больных сахарным диабетом достоверно снижалась. При сравнении полученных данных у больных ХГ и СД следует, что при диабетической нефропатии ЭПО-синтезирующие клетки интерстиции повреждаются и разрушаются раньше, чем при недиабетической нефропатии, что соответствует литературным данным (Thomas, 2007).

При анализе метаболизма железа у лиц контрольных групп у 33 пациентов (47,8%) был выявлен скрытый дефицит железа разной степени выраженности, что проявилось изменением концентрации сывороточного железа и ферритина в сыворотке крови по сравнению с нормой (Табл.2).

Таблица 2.

Железодефицитные состояния у лиц, страдающих ЦП, ХГН и СД при нормальном значении Нв в общем анализе крови.

группы больных	прелатентный дефицит (Fe сыв. в норме, ферритин снижен)	латентный дефицит (Fe сыв. снижено, ферритин снижен)	Fe сыв. снижено, ферритин в норме или повышен
ЦП	5,0% (n=1)	5,0% (n=1)	30,0% (n=6)
ХГ	3,4% (n=1)	27,6% (n=8)	31,0% (n=9)
СД	10,0% (n=2)	20,0% (n=3)	10,0% (n=2)

Из приведенных в таблице данных следует, что из 69 человек контрольной группы у 16 обследуемых (23,1 %) имеется скрытый дефицит железа, который, при отсутствии коррекции перейдет в железодефицитную анемию. У 3-х обследуемых выявлен прелатентный дефицит железа с нормальными показателями сывороточного железа $8,63 \pm 0,57$ мкмоль/л и сниженным ферритином – $8,90 \pm 0,69$ нг/мл; у 13-ти обследуемых выявлен латентный дефицит железа, характеризующийся низкими показателями сывороточного железа – $6,50 \pm 0,47$ мкмоль/л и сниженным уровнем ферритина – $8,98 \pm 1,40$ нг/мл. У 17 обследуемых (24,6%) сниженный уровень сывороточного железа – $7,10 \pm 1,77$ мкмоль/л (диапазон колебаний: от 5,0 до 10,2 мкмоль/л) отмечается на фоне

нормального или повышенного уровня ферритина – $79,5 \pm 69,3$ нг/мл (диапазон колебаний: от 25,0 до 228,0 нг/мл). Такие значения ферритина можно объяснить тем, что ферритин относится к белкам «острой фазы», и повышение сывороточного ферритина (СФ) может расцениваться как цитопротективный ответ, призванный погасить реакции воспаления и окислительного стресса (Khosravi et al. 1988; Harrison et al., 1996). В нашем случае это подтверждается повышением уровня СРБ у данной группы пациентов. Повышенное содержание СФ у данных пациентов коррелирует с уровнями С-реактивного белка, что отражено на рис. 3.

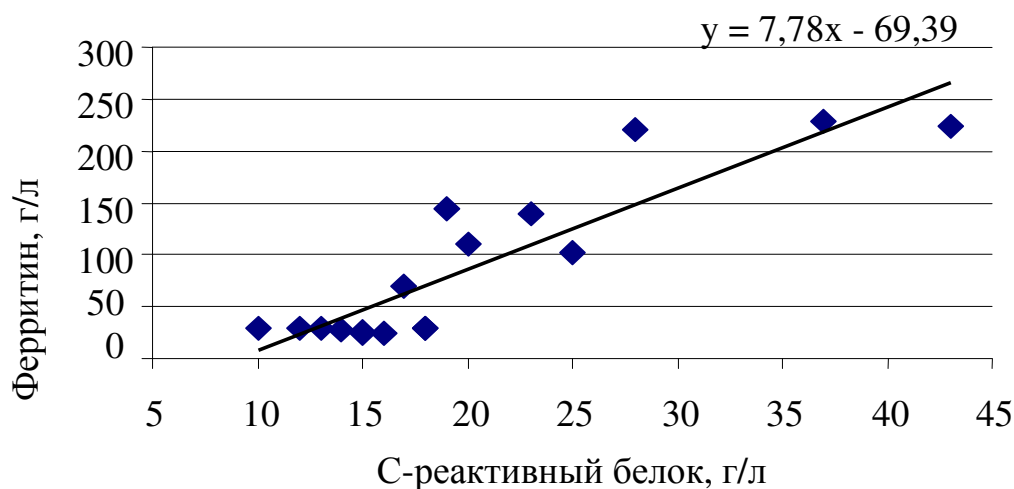


Рис.3. Изменение уровня сывороточного ферритина у людей группы сравнения в зависимости от показателей С-реактивного белка.

Статистические данные: $r = 5,470$; $p = 0,001$.

Из полученных данных следует, что при увеличении СРБ на 1 г/л, концентрация сывороточного ферритина увеличивается на 7,78. У данных пациентов, при отсутствии мер профилактики, вероятно развитие анемии хронических заболеваний.

Влияние анемии на биохимические показатели больных хроническим гломерулонефритом и сахарным диабетом.

Для оценки зависимости состояния функции почек у лиц, страдающих гломерулонефритом от влияния анемии на течение заболевания исследованы такие показатели, как определение мочевины, креатинина сыворотки, СКФ, экскрецию белка с мочой, уровень общего белка и альбумина в сыворотке крови, ГГТП, ЩФ (Табл. 3).

Таблица 3.

Биохимические показатели сыворотки крови у лиц, страдающих ХГН в основной и контрольной группах.

Исследуемые показатели	Основная группа	Контрольная группа
Мочевина, моль/л	11,47 ± 4,00*	5,95 ± 3,00
Креатинин, мкмоль/л	236,58 ± 126,00*	109,62 ± 47,00
Общий белок, г/л	64,85 ± 8,00*	70,59 ± 9,00
Альбумин, г/л	32,57 ± 6,00*	39,86 ± 6,00
СКФ, мл/мин/1,73 м ²	52,71 ± 28,00*	94,16 ± 34,00
Белок в моче, г/л	1,13 ± 1,00	0,93 ± 2,00
ГГТП, Е/л	58,35 ± 35,00*	46,31 ± 9,00
ЩФ, Е/л	271,27 ± 64,00*	211,38 ± 65,00

* - различия между группами статистически значимые (p≤0,05).

Для оценки зависимости состояния людей страдающих сахарным диабетом от влияния гипоксии вызванной анемией на течение заболевания исследованы такие показатели, как мочевина, креатинин сыворотки, СКФ, экскреция белка с мочой, уровень общего белка и альбумина в сыворотке крови, глюкозу крови, гликированный гемоглобин, ЩФ и ГГТП (Табл. 4).

Таблица 4.

Биохимические показатели сыворотки крови у лиц, страдающих СД I типа в основной и контрольной группах.

Исследуемые показатели	Основная группа	Контрольная группа
Глюкоза крови, моль/л	10,13 ± 5,00	10,98 ± 6,00
НbA ^{1c} , %	11,42 ± 3,00*	9,74 ± 3,00
Мочевина, моль/л	8,69 ± 4,00*	5,63 ± 2,00
Креатинин, мкмоль/л	130,75 ± 63,00*	74,15 ± 22,00
Общий белок, г/л	68,56 ± 5,00*	71,5 ± 5,00
Альбумин, г/л	34,38 ± 4,00*	39,15 ± 5,00
СКФ, мл/мин/1,73 м ²	83,02 ± 44,00*	101,25 ± 24,00
Белок в моче, г/л	0,68 ± 1,00*	0,29 ± 0,12
ГГТП, Е/л	41,58 ± 14,00*	32,9 ± 13,00
ЩФ, Е/л	285,00 ± 73,49*	190,55 ± 46,00

* - различия между группами статистически значимые (p≤0,05).

Уровень мочевины у обследуемых лиц основных групп, как при хроническом гломерулонефрите, так и при сахарном диабете был достоверно выше. Так уровень мочевины у больных СД I типа был $8,69 \pm 4,00$ ммоль/л, а в контрольной группе $5,63 \pm 2,00$ ммоль/л ($p=0,001$). При этом выявлена обратная корреляция мочевины и гемоглобина ($r = -0,387$; $p=0,005$). Уровень мочевины при хроническом гломерулонефрите был выше у лиц основной группы и составил $11,47 \pm 4,00$ ммоль/л, а в группе контроля $-5,95 \pm 3,00$ ммоль/л. Кроме того, выявлена обратная корреляция ($r = -0,555$; $p=0,001$). Известно, что уровень мочевины отражает функцию клубочкового аппарата почек.

Установлено, что уровень сывороточного креатинина достоверно выше у лиц основной группы. У больных СД I типа в основной группе уровень креатинина составил $130,0 \pm 63,0$ мкмоль/л, в контрольной группе этот показатель не превышал $74,15 \pm 22,00$ мкмоль/л. При оценке показателей креатинина и гемоглобина выявлена обратная корреляция ($r = -0,490$; $p=0,001$). У обследуемых, с хроническим гломерулонефритом показатель креатинина в основной группе был равен $236,0 \pm 126,0$ мкмоль/л, а в контрольной группе – $109,62 \pm 7,00$ мкмоль/л. И, также, была установлена обратная корреляция ($r = -0,547$; $p=0,001$).

Для изучения фильтрационной способности почек при сахарном диабете и хроническом гломерулонефрите был использован тест для определения скорости клубочковой фильтрации. У лиц основной группы, СКФ находилась на уровне $83,02 \pm 44,00$ мл/мин, что было достоверно ниже, чем у обследуемых в группе контроля – $101,25 \pm 24,00$ мл/мин ($p=0,003$). Корреляции между СКФ и уровнем гемоглобина у больных СД I типа нами не выявлено, но при этом отмечается, что СКФ в основной группе обследуемых достоверно снижалась по мере снижения показателей гемоглобина (Табл. 5).

Таблица 5

Изменение показателей СКФ у больных сахарным диабетом I типа в зависимости от степени выраженности анемии ($M \pm \sigma$)

Уровень гемоглобина, г/л	Значение СКФ
≥ 100 г/л (n =10)	$105,0 \pm 62,0$
80 – 99 г/л (n =20)	$72,1 \pm 23,2^*$
65 – 77 г/л (n = 2)	$43,5 \pm 1,5^*$

*- различия между группами статистически значимые, $p=0,001$.

У лиц с хроническим гломерулонефритом была выявлена более низкая СКФ в обеих группах, чем у больных СД I типа, что несколько противоречит литературным данным (Astor, 2002; Stevens et al., 2003). Так, в основной группе больных ХГ СКФ была в пределах $52,71 \pm 28,00$ мл/мин, что оказалось достоверно ниже показателей лиц контрольной группы $109,62 \pm 34,00$ мл/мин ($p=0,001$), но в отличие от СД I типа, при ХГ выявлена корреляция между СКФ и степенью выраженности анемии ($r = -0,608$; $p=0,001$).

Отсюда можно сделать вывод, что гипоксия патологически влияет на почечный кровоток, вызывая снижение клубочковой фильтрации.

В то же время выявлена тенденция к более высоким уровням протеинурии у лиц, страдающих хроническим гломерулонефритом с анемией в ОАК. В основной группе обследуемых уровень белка в моче составил $1,13 \pm 1,00$ г/л, а в группе контроля $-0,93 \pm 2,00$ г/л, $p=0,074$. У больных СД I типа выявлены достоверные различия в основной и контрольной группах по этому показателю, хотя значения протеинурии в группах были ниже, чем у лиц с ХГ. В основной группе обследуемых уровень протеинурии составил $0,69 \pm 1,00$ г/л, а в контрольной группе – $0,29 \pm 0,20$ г/л, $p=0,04$. Кроме того, установлена корреляция между показателем протеинурии и гемоглобином ($r = -0,323$; $p=0,032$).

В сыворотке крови отмечалась гипопропротеинемия, как у страдающих ХГ, так и СД. Показатели общего белка и альбумина у обследуемых в основных группах были достоверно ниже, чем обследуемых контрольных групп ($p < 0,05$). Выявлена достоверная зависимость уровня альбумина от уровня гемоглобина, как в группе с ХГ ($r = 0,524$, $p=0,001$), так и в группе с СД ($r = 0,386$; $p=0,005$). Следовательно, гипоксия, вызванная анемией, влияет на проницаемость гломерулярного фильтра, и в моче появляются и увеличиваются, по мере усугубления анемии, молекулы белков, которые в норме не фильтруются в просвет канальцев. Таким образом, при гипоксии происходит более выраженное повышение проницаемости гломерулярного фильтра, которое при более длительном гипоксическом воздействии приводит к развитию более выраженной гипопропротеинемии.

Т.к. почки содержат ГГТП и ЩФ, ферменты, традиционно используемые для диагностики заболеваний печени и желчных путей, мы изучили их активность при патологии почек. Активность ГГТП в основной группе обследуемых ХГ была выше, чем активность в контрольной группе ($p=0,03$), однако, корреляции ГГТП от уровня гемоглобина выявлено не было, $p > 0,05$. Отмечен довольно большой диапазон колебаний ГГТП у больных основной группы: от 21,0 до 209,0 Е/л, что вероятно, можно объяснить периодом заболевания, т.к. нами выявлена корреляция изменения уровня ГГТП от выраженности СРБ ($r = 0,695$; $p=0,003$). Были получены достоверные различия между активностью ГГТП в основной группе и группе сравнения (коэффициент Манна-Уитни = 195,5; $p=0,027$) у больных СД I типа. Выявлена достоверная зависимость уровня ГГТП от уровня гемоглобина у больных СД I типа ($r = -0,285$; $p=0,043$).

Значения ЩФ у обследуемых с ХГ в основной группе были достоверно выше, по сравнению с контрольной группой (коэффициент Манна-Уитни 168,5; $p=0,003$), получена достоверная зависимость изменения ЩФ от уровня НВ ($r = -0,464$; $p=0,001$). У больных сахарным диабетом в основной группе средние значения ЩФ так же были выше, чем у лиц группы сравнения (значение теста Манна-Уитни 149,0; $p=0,001$), и также получена достоверная зависимость изменения активности ЩФ от уровня НВ ($r = -0,317$; $p=0,022$). Отсюда следует, что при поражении почек при хроническом гломерулонефрите и сахарном диабете повышается активность ГГТП и ЩФ, следовательно, данные ферменты

могут использоваться как маркеры поражения почек. А так как у лиц, отягощенных анемией, активность данных ферментов была выше, чем в группе контроля, то следует предположить, что анемия усугубляет поражение нефронов.

В процессе анализа проведенного биохимического исследования установлено, что в основных группах обследуемых с ХГ и СД I типа, средние значения показателей азотистого обмена (мочевина и креатинин) были достоверно выше, чем в контрольных группах ($p \leq 0,05$). Скорость клубочковой фильтрации у пациентов основной группы - достоверно ниже, чем у пациентов контрольной группы. Более низкий уровень общего белка и альбумина также чаще отмечался у лиц основной группы.

Из всех зависимостей, характеризующих изменение показателей НВ при **хроническом гломерулонефрите** в плане проведенного исследования интерес представляют следующие:

$$\Delta \text{НВ} = 118,02 - 0,752 \times \text{анемия} * \Delta \text{ГГТП} - 0,064 \times \Delta \text{ЩФ} + 0,147 \times \Delta \text{СКФ} - 0,371 \times \text{анемия} * \Delta \text{креатинин} - 0,619 \times \text{анемия} * \Delta \text{общий белок}$$

Прогноз вероятности развития анемии у больных хроническим гломерулонефритом можно рассчитать по таким показателям как мочевина, ЩФ, альбумин по формуле:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(\text{мочевина} \times 0,805 - \text{альбумин} \times 0,204 + \text{ЩФ} \times 0,029)}}$$

Изменения показателей НВ у больных **сахарным диабетом** с высокой достоверностью коррелируют с изменениями параметров, характеризующих функциональное состояние почек (мочевина).

$$\Delta \text{НВ} = 123,895 + 2,094 \Delta \text{мочевина} - 3,062 \text{анемия} * \Delta \text{мочевина}$$

Прогноз вероятности развития анемии у больных сахарным диабетом, исходя из проведенного многофакторного линейного регрессионного анализа, можно рассчитать по таким показателям как креатинин, ЩФ, альбумин, глюкоза крови по формуле:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(\text{креатинин} \times 0,023 - \text{альбумин} \times 0,098 + \text{ЩФ} \times 0,028 - \text{глюкоза крови} \times 0,146)}}$$

Влияние анемии на биохимические показатели у лиц, страдающих циррозом печени.

У обследуемых с циррозом печени оценивались функциональное состояние печени и степень повреждения гепатоцитов по показателям: АсАТ, АлАТ, ЩФ, ГГТП, билирубина, альбумина и общего белка (Табл.6).

Таблица 6.

Биохимические показатели сыворотки крови у лиц, страдающих циррозом печени в основной и контрольной группах.

Исследуемые показатели	Основная группа	Контрольная группа
АлАт, Е/л	56,56 ± 31,00*	41,40 ± 17,00
АсАт, Е/л	67,05 ± 29,00*	53,90 ± 26,00
Общий белок, г/л	67,55 ± 8,00*	75,60 ± 7,00
Альбумин, г/л	34,05 ± 6,00*	41,10 ± 5,00
Билирубин, мкмоль/л	40,32 ± 44,50	32,86 ± 18,87
ГГТП, Е/л	154,42 ± 129,00	135,70 ± 120,00
ЩФ, Е/л	444,42 ± 281,00*	310,55 ± 133,00

* - различия между группами статистически значимые ($p \leq 0,05$).

Повышение активности АсАТ и АлАТ свидетельствуют о повреждении гепатоцитов. АсАТ обнаруживается в митохондриях, и цитозоле гепатоцита, а АлАТ целиком локализуется в цитозоле и переходит в кровь при повреждении клетки. Активность АсАТ у больных основной группы была достоверно выше, чем у пациентов контрольной группы (коэффициент Манна-Уитни = 258,0; $p=0,046$). Активность АсАТ в основной группе больных превысила норму на 53,7%, а у больных контрольной группы на 33,9%. Превышение активности АсАТ в основной группе больных происходит за счет высвобождения митохондриальной фракции АсАТ в результате более тяжелого клеточного повреждения, которое можно объяснить повреждающим действием на клетки печени гипоксии, вызванной анемией. Кроме того, выявлена корреляция по Пирсону с уровнем гемоглобина ($r = -0,272$; $p = 0,039$).

По данным, приведенным в табл. 6, можно проследить тенденцию к увеличению активности АлАТ в крови обследуемых с циррозом печени из группы с хронической гипоксией. Различия между группами достоверны: коэффициент Манна-Уитни = 238,0; $p=0,020$. В то же время между активностью АлАТ и уровнем гемоглобина корреляции не обнаружено ($r = -0,211$; $p=0,112$).

Повышение активности ЩФ в сыворотке крови при циррозе печени связано с высвобождением фермента из поврежденных печеночных клеток. При сравнении двух групп обследуемых лиц получены статистически достоверные данные (коэффициент Манна – Уитни = 251,0; $p=0,035$). В обеих группах выявлена повышенная активность ЩФ. У лиц основной группы среднее значение щелочной фосфатазы превысило верхнюю границу нормы (60 – 275 Е/л) на 61,8%, а в контрольной группе среднее значение выросло на 13,1%. Из полученных данных (табл. 6) видно, что уровень активности ЩФ в основной группе значительно выше, что можно связать с дополнительно гипоксическим поражением гепатоцитов, вызванным наличием анемии. Изменения активности ЩФ в основной группе обследуемых в зависимости от выраженности анемии представлены в таблице 7.

Таблица 7

Активность ЩФ в сыворотке крови (Е/л) у больных циррозом печени в основной группе в зависимости от степени выраженности анемии.

Уровень гемоглобина, г/л	Значение ЩФ (М ± σ)
≥100 г/л (n =18)	369,10 ± 145,50
80 – 99 г/л (n =15)	430,20 ± 213,20*
65 – 77 г/л (n = 5)	768,04 ± 493,90*

Полученные данные свидетельствуют о том, что активность ЩФ увеличивалась по мере снижения гемоглобина. Различия между группами были достоверны ($p < 0,05$). Это связано с тем, что данный фермент локализуется преимущественно на синусоидальной и каникулярной мембране гепатоцитов, чувствительной к воздействию гипоксии.

Активность ГГТП увеличивается, как правило, параллельно увеличению активности ЩФ, но активность ГГТП увеличивается раньше и держится на повышенных цифрах более длительное время. При исследовании ГГТП достоверных различий между группами больных не было выявлено. Корреляция между активностью ГГТП и степенью выраженности анемии не достоверна ($r = -0,076$; $p = 0,572$).

Однако, необходимо отметить индивидуальные различия активности ГГТП в основной группе обследуемых в зависимости от тяжести анемии. При уровне гемоглобина 80 – 99 г/л значения ГГТП превышало норму в 3,5 раза, а при гемоглобине 65 – 79 г/л уровень ГГТП был повышен в 6 раз. При исследовании активности ГГТП в зависимости от уровня гемоглобина были получены следующие результаты (рис. 4)

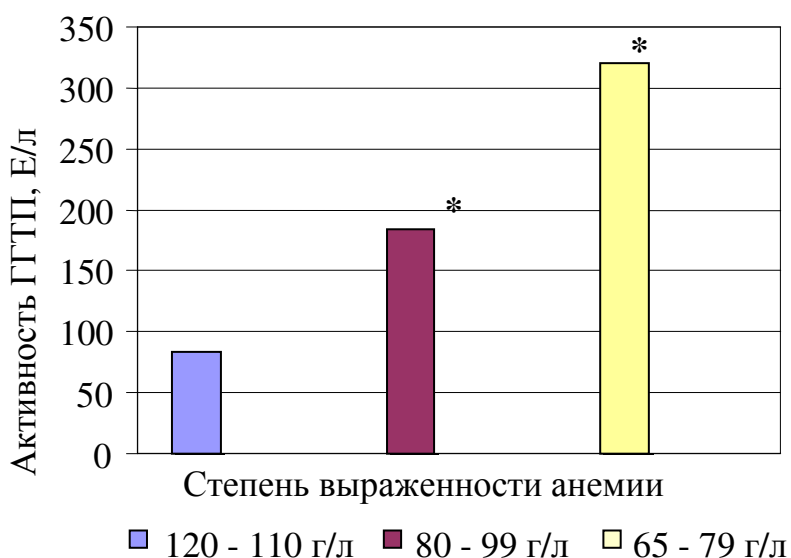


Рис. 4. Активность ГГТП в сыворотке в зависимости от уровня гемоглобина больных циррозом печени из основной группы.

* - различия между группами статистически значимые: $p < 0,05$

Из рис. 4 очевидно, что с уменьшением уровня гемоглобина активность ГГТП увеличивается. Отсюда, можно заключить, что гепатоциты печени чувствительны к действию повреждающих факторов, и в первую очередь, гипоксии.

При тяжелой степени анемии отмечена тенденция к повышению значений ГГТП. При средней степени анемии активность фермента также была достаточно высокой. При этом отмечен большой диапазон полученных значений – самые низкие цифры были зафиксированы в группе с легкой степенью выраженности анемии, а самые высокие цифры - в группе больных, имеющих тяжелую степень выраженности анемии.

Исходя из того, что уровень активности исследуемых ферментов был достоверно выше у больных циррозом печени с наличием анемии, можно сделать вывод о том, что снижение уровня гемоглобина усугубляет течение основного заболевания и усиливает повреждающее воздействие на клетку.

Проведенные исследования подтверждают, что в тканях печени у больных с анемией происходят более выраженные деструктивные изменения. В связи с этим следующей задачей было изучение функциональных изменений.

Известно, что наиболее информативным показателем, характеризующим состояние белоксинтетической функции печени, является содержание в крови альбумина, так как печень является единственным органом, синтезирующим альбумин (Подымова, 1993). Для изучения влияния хронической гипоксии, вызванной анемией, на функциональное состояние печени были проанализированы показатели общего белка и альбумина в сыворотке крови (табл.6).

Самые низкие значения альбумина – 24 г/л (при норме – 35 – 55 г/л), отмечались у лиц основной группы. При этом диапазон колебаний составил 24 – 48 г/л. Внутри основной группы обследуемых была отмечена тенденция к снижению показателей альбумина по мере снижения уровня гемоглобина.

Самые низкие значения общего белка у лиц основной группы составили 53 г/л, что на 18,5% меньше нижней границы нормы (65 – 85 г/л). Диапазон колебаний уровня общего белка в контрольной группе составил 62 – 85 г/л. Наименьшие значения были близки к нижней границе нормы.

Выявлена достоверная корреляция по Пирсону уровней альбумина ($r = 0,53$; $p=0,001$) и общего белка ($r = 0,485$; $p=0,0012$) от уровня гемоглобина.

Из полученных данных можно сделать вывод о том, что гипоксия, вызванная анемией, способствует снижению белоксинтетической функции печени.

Гипербилирубинемия возникает в результате: 1) избыточной продукции; 2) уменьшения поглощения печенью; 3) уменьшения конъюгации в печени (конъюгации, необходимой для экскреции); 4) уменьшения экскреции с желчью. Следовательно, уровень билирубина позволяет судить о поглотительной, метаболической (конъюгация) и экскреторной функциях печени. Полученные показатели представлены в табл. 6.

Полученные различия в показателях билирубина между основной и контрольной группами статистически не значимые – $p > 0,05$. Соответственно, корреляции билирубина в зависимости от снижения уровня гемоглобина не установлено ($r = 0,01$; $p > 0,05$).

Однако диапазон колебаний значений билирубина в сыворотке крови у обследуемых в основной группе составил от 16,0 до 297,0 мкмоль/л, что превысило норму в 15 раз; у лиц контрольной группы – 12,0 – 80,0 мкмоль/л, что в 4 раза превысило показатели нормы.

В процессе анализа проведенного биохимического исследования у больных циррозом печени с наличием анемии в большей степени были выявлены функциональные нарушения печени (общий белок, альбумин, билирубин) и повреждение гепатоцитов (АсАТ, АлАТ, ЩФ, ГГТП).

Изменения показателей НВ при циррозе печени с высокой достоверностью коррелируют с изменениями параметров, характеризующих степень повреждения гепатоцитов (АлАТ, АсАТ, ГГТП) и функциональное состояние печени (альбумин).

$\Delta \text{НВ} = 106,38 + 0,261 \times \Delta \text{АлАТ} - 0,219 \times \Delta \text{АсАТ} + 0,772 \times \Delta \text{альбумин} - 0,036 \times \text{анемия} * \Delta \text{ГГТП}$

Прогноз вероятности развития анемии у больных ЦП, исходя из проведенного многофакторного линейного регрессионного анализа, можно рассчитать по таким показателям как АлАТ, ЩФ, альбумин по формуле:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(\text{АлАт} \times 0,04 - \text{альбумин} \times 0,071 + \text{ЩФ} \times 0,004)}} .$$

Развитие анемии у больных с хроническими заболеваниями печени и почек можно считать закономерным неблагоприятным фактором структурно-функциональных нарушений в эпителии канальцев и строме почек и расценивать как неблагоприятный прогностический фактор.

Для диагностики и дальнейшего контроля анемии у больных хроническим гломерулонефритом, циррозом печени, сахарным диабетом I типа необходимо дифференцировать анемию на основе морфологической и кинетической классификации анемий по следующему алгоритму:

1. необходим анализ крови для установления морфологического типа анемии: микро-, нормо- или макроцитарная;
2. подсчет абсолютного количества ретикулоцитов: гипорегенераторная или регенераторная;
3. исследование железа сыворотки;
4. исследование ОЖСС, ферритина, трансферрина, насыщение трансферрина железом, С-реактивного белка с целью дифференциальной диагностики ЖДА и АХЗ;

5. при отсутствии изменений в обмене железа необходимо исследование метаболитов эритропоэза (витамин В12, фолиевая кислота);
6. в некоторых случаях исследование уровня эритропоэтина;
7. определение объема и проведение обследования для установления причины дефицита метаболитов эритропоэза.

ВЫВОДЫ

1. На основании проведенных исследований сывороточного железа, ферритина, трансферрина, ОЖСС, насыщения трансферрина железом, выявлено, что ведущее место при циррозе печени, хроническом гломерулонефрите и сахарном диабете занимают железodefицитная анемия и анемия хронических заболеваний.
2. Нарушения клубочковой фильтрации проявляются в основном снижением скорости фильтрации и соответствующим повышением уровня креатинина и снижением белка в сыворотке крови, показатели достоверно ухудшаются у больных с анемией и зависят от степени выраженности анемии.
3. Экскреция белка с мочой при сахарном диабете и хроническом гломерулонефрите характеризует состояние гломерулярного фильтра и дисфункцию эндотелия почечных капилляров, достоверно повышалась у лиц с анемией.
4. Повышение активности АсАТ, АлАТ, ГГТП и ЩФ в сыворотке крови при циррозе печени и, корреляция этих ферментов с гемоглобином может быть обусловлена гипоксическими поражениями гепатоцитов печени. Показатели активности ГГТП и ЩФ можно использовать как диагностический тест у лиц при хроническом гломерулонефрите и диабетической нефропатии.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

I. Работы, опубликованные в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, определенных ВАК:

1. **Лагонская В.Н.** Особенности анемии у больных хроническим гломерулонефритом / В.Н. Лагонская // Вестник Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского. – 2011. – № 2 (2). – С. 86-89.
2. **Лагонская В.Н.** Влияние анемии на биохимические показатели при заболеваниях печени и почек / В.Н. Лагонская // Медицинский альманах. – 2011. – № 6(19). – С. 34-36.

II. Статьи, тезисы докладов региональных, всероссийских и международных конференций:

1. **Лагонская В.Н.** Роль лабораторной диагностики анемий при циррозе печени и хроническом гломерулонефрите / В.Н. Лагонская // Лаборатория. – 2010. – №2. – С. 26-27.

2. Конторщикова К.Н., **Лагонская В.Н.** Анемии при циррозе печени и хроническом гломерулонефрите / К.Н. Конторщикова, В.Н. Лагонская // журнал «Кровь». Тез. докл. Международной конференции «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии», Ереван-Степанакерт. – 2010. – №1(10). – С. 26.

3. **Лагонская В.Н.** Патогенетические механизмы развития анемий при некоторых хронических заболеваниях / В.Н. Лагонская // Тез. докл. IX юбилейной научной сессии молодых ученых «Современное решение актуальных научных проблем в медицине», Н. Новгород: НижГМА. – 2010. – С. 17-18.

4. **Лагонская В.Н.**, Конторщикова К.Н. Анемии при циррозе печени и хроническом гломерулонефрите / В.Н. Лагонская, К.Н. Конторщикова // Научно-практический журнал "Кровь" МЗ РА. Ереван. – 2011. – 1(11). – С. 18-21.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АлАт – аланинаминотрансфераза
АсАт – аспартатаминотрансфераза
АХЗ – анемия хронических заболеваний
ВОЗ – Всемирная Организация здравоохранения
ГГТП – гаммаглутамилтранспептидаза
ЖДА – железодефицитная анемия
МСV – средний объем клетки
МСН – среднее содержание гемоглобина в эритроците
ОЖСС – общая железосвязывающая способность сыворотки
СД – сахарный диабет
СКФ – скорость клубочковой фильтрации
TSAT – степень насыщения трансферрина
ХБП – хронической болезни почек
ХГН – хронический гломерулонефрит
ЦП – цирроз печени
ЩФ – щелочная фосфатаза
ЭПО – эритропоэтин

