

УДК 616.61-612.12

ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ В КРОВИ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ**Муравлёва Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Клюев Д.А., Колесникова Е.А.,
Демидчик Л.А., Сариева С.С.***Государственный медицинский университет, Караганда, e-mail: muravlev@inbox.ru*

Проведено обследование крови 126 пациентов с хронической болезнью почек (ХБП) V стадии. Больные были разделены на 2 группы. В первую группу вошли 78 больных хроническим пиелонефритом с исходом в хроническую почечную недостаточность (ХПН), вторую группу составили 28 больных хроническим гломерулонефритом с исходом в ХПН. В плазме крови и эритроцитах определяли кислоторастворимую фракцию предшественников нуклеиновых кислот, внеклеточные РНК и ДНК. Обнаружены особенности аккумуляции вкДНК и вкРНК в плазме крови и эритроцитах больных ХБП в зависимости от инициального нозологического варианта. Высказано предположение об участии вкДНК и вкРНК в механизмах прогрессирования хронической болезни почек.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, терминальная хроническая почечная недостаточность, внеклеточные нуклеиновые кислоты, плазма, эритроциты.

EXTRACELLULAR NUCLEIC ACIDS IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC RENAL FAILURE**Muravlyova L.E., Molotov-Luchanskiy V.B., Klyuev D.A., Kolesnikova E.A.,
Demidchik L.A., Sarieva S.S.***State medical university, Karaganda, e-mail: muravlev@inbox.ru*

The examination of blood of 126 patients with V degree of chronic kidney disease (CKD) was made. Patients were divided into 2 groups. The first group included 78 patients with chronic pyelonephritis that had led to chronic kidney failure (CKF); the second group included 28 patients with chronic glomerulonephritis suffering of CKD too. In plasma and erythrocytes acid soluble fraction of nucleic acids precursors, an extracellular RNA and DNA were determined. It was observed the particular qualities of extracellular RNA and DNA accumulation in plasma and erythrocytes of patients with CKD, depending on the an initiating nosological form. The active participation of extracellular RNA and DNA in the mechanisms of progression of chronic kidney disease has to be discussed.

Keywords: chronic kidney disease, chronic kidney failure, extracellular nucleic acids, plasma, red blood cells.

Одним из приоритетных направлений в медико-биологических исследованиях является изучение внеклеточных нуклеиновых кислот (вкНК) как молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждением (damage-associated molecular patterns, DAMPs) [1]. В последнее время была сформулирована гипотеза, что в условиях окислительного стресса происходит окислительное повреждение ДНК. Фрагменты окисленной ДНК высвобождаются из ядер клеток и выполняют функцию стресс-сигнала. Окисленная ДНК способна стимулировать образование АФК, которые запускают адаптивный ответ, включающий изменение экспрессии генов ферментов антиоксидантной защиты и детоксикации, образование нитей стрессорного актина и т.д. Эта гипотеза основана на данных исследований на культуре клеток и требует дальнейшей экспериментальной проверки [8].

Достигнут определенный прогресс в понимании механизма высвобождения вкРНК. Показано, что вкРНК могут высвобождаться из клеток как путем везикулярного транспорта, так и в комплексе с белками, защищающими их от воздействия эндонуклеаз.

По существующей гипотезе именно подобного рода защищенные везикулами или белками РНК выполняют функцию межклеточных коммуникаторов [6].

Обсуждается роль вкНК в асептическом воспалении [4,5]. Персистенция в крови внеклеточных нуклеиновых кислот вследствие неэффективного клиренса может вызывать каскад реакций, характерных для системного воспаления [7].

Ранее проведенное нами исследование уровня вкНК в крови больных тубулопатиями и гломерулопатиями показало, что по сравнению с контролем вкРНК снижались в плазме крови больных всех обследованных групп, но возрос уровень вкРНК, сорбированных на эритроцитах [2]. Анализ изменения вкДНК в эритроцитах и плазме крови больных выявил достоверные отличия от контроля у больных с хроническим гломерулонефритом. Эти результаты показали необходимость исследования направленности изменения вкНК у больных при прогрессировании хронической болезни почек.

Целью нашего исследования явилось изучение содержания в эритроцитах и плазме крови больных с хронической почечной

недостаточностью (в зависимости от инициальных нозологических вариантов).

Проведено клиническое обследование 126 пациентов с хронической болезнью почек (ХБП) V степени (согласно классификации K/DOQI), то есть, страдающих хронической почечной недостаточностью (ХПН). В зависимости от инициальных нозологических вариантов больные были разделены на 2 группы. В первую группу вошли 78 больных хроническим пиелонефритом (ХПЛ) и ХПН, вторую группу составили 28 больных хроническим гломерулонефритом (ХГН), у которых также была диагностирована ХПН. Хроническая почечная недостаточность достигла у больных обеих групп терминальной стадии (ТХПН).

Наблюдение велось на этапе консервативной терапии, до начала программного гемодиализа. Детально изучались анамнез, динамика развития клинической симптоматики, эффекты плановой терапии. У пациентов выявлены тубуло- и гломерулопатии (хронический пиелонефрит, гломерулонефриты) после физикальных и дополнительных исследований, стандартизированных в клинической медицине. В качестве контроля были использованы показатели, определенные в крови 25 здоровых лиц.

От всех обследованных лиц перед забором крови было получено информированное согласие. Кислоторастворимую фрак-

цию предшественников нуклеиновых кислот (КРФ), внеклеточные РНК и ДНК в плазме оценивали по методу Л.И Маркушевой и соавторов [3]. Единицы измерения – мкг/мл. Результаты обрабатывали методами вариационной статистики.

Результаты исследования вкНК представлены в таблицах 1 и 2. Из данных таблицы 1 следует, что у больных 1 группы уровень КРФ в плазме крови достоверно превышал таковой контроля в 2,3 раза. Также отмечено достоверное увеличение в плазме крови больных этой группы содержания вкДНК (в 4 раза) и, особенно, вкРНК (в 58 раз), по сравнению с таковыми контроля.

У больных 2 группы в плазме крови возросло содержание КРФ, достоверно превышающее значение контроля в 8,6 раза. Зафиксировано увеличение в плазме крови больных этой группы вкДНК (в 23,5 раза) по сравнению с контролем. В тоже время наблюдалось достоверное снижение вкРНК (в 2 раза) по сравнению с таковым контроля.

Сравнение результатов исследования вкНК и КРФ в плазме крови больных 1 и 2 групп между собой показало выраженные отличия как по степени аккумуляции вкНК, так и по направленности их изменений. Обращает на себя внимание, что у больных ХПЛ, в плазме крови резко возросло содержание вкРНК, тогда как у больных ХГН – вкДНК при снижении уровня вкРНК ниже контроля.

Таблица 1

Содержание внеклеточных нуклеиновых кислот и КРФ в плазме крови больных с ХПН в зависимости от нозологических вариантов (X + m)

Группа	КРФ, мкг/мл	ДНК, мкг/мл	РНК, мкг/мл
ХБП V стадии (ХПЛ) (группа 1)	0,0163 ± 0,0019*	0,0008 ± 0,0003*	0,0116 ± 0,0018*
ХБП, V стадии (ХГН) (группа 2)	0,0605 ± 0,0079*#	0,0047 ± 0,0008*#	0,0010 ± 0,0004*#
Контроль	0,007 ± 0,0041	0,0002 ± 0,00012	0,002 ± 0,0004

Примечание:
* – Достоверность по отношению к контролю (p≤0,005 и ниже)
– Достоверность по отношению к группе с ХПЛ (p≤0,005 и ниже)

Таблица 2

Содержание внеклеточных нуклеиновых кислот и КРФ, сорбированных на эритроцитах крови больных с ХБП различной степени (X + m)

Группа	КРФ, мкг/мл	ДНК, мкг/мл	РНК, мкг/мл
ХБП V стадии (ХПЛ) (группа 1)	2,03±0,333*	1,61±0,249*	1,28±0,352*
ХБП, V стадии (ХГН) (группа 2)	0,2310±0,0704*#	2,7508±0,7117*	0,4201±0,1151*#
Контроль	0,068 ± 0,0487	0,012 ± 0,0025	0,0980 ± 0,0369

Примечание:
* – Достоверность по отношению к контролю (p≤0,005 и ниже)
– Достоверность по отношению к группе с ХПЛ (p≤0,005 и ниже)

Следовательно, полученные нами данные показали, что ХБП V степени сопровождается выходом в кровь внеклеточных нуклеиновых кислот и увеличением содержания КРФ. Зафиксированы особенности аккумуляции вкНК: у больных ХПЛ превалировали вкРНК. Другой паттерн наблюдался у больных ХГН: аккумуляция вкДНК при резком снижении вкРНК.

Из данных таблицы 2 следует, что у больных 1 группы уровень КРФ, сорбированных на эритроцитах крови достоверно превышал таковой контроля в 22,8 раза. Также отмечено достоверное увеличение в плазме крови больных этой группы содержания вкДНК и, особенно, вкРНК, по сравнению с таковыми контроля.

У больных 2 группы возросло содержание КРФ, сорбированных на эритроцитах, превышающее значение контроля в 3,38 раз. Зафиксировано резкое достоверное увеличение вкДНК, сорбированных на эритроцитах крови больных этой группы, а также вкРНК по сравнению с таковым контроля.

Сопоставление результатов исследования вкНК и КРФ, сорбированных на эритроцитах крови больных 1 и 2 групп, между собой показало выраженные отличия по степени аккумуляции вкНК. Обращает на себя внимание, что у больных ХПЛ в эритроцитах крови возросло содержание как вкНК, так и КРФ, тогда как у больных ХГН – главным образом, вкДНК.

Следовательно, обнаружены особенности аккумуляции КРФ и вкНК в плазме крови и эритроцитах больных ХБП (V степень) в зависимости от нозологического варианта.

Было проведено сопоставление направленности изменений изучаемых показателей у больных ХПЛ и ГН [2] с таковыми у больных ХПЛ и ХГН с исходом в терминальную ХПН. В результате сравнения было выявлено, что исход ХПЛ в терминальную ХПН сопровождался тенденцией к снижению содержания вкДНК при увеличении вкРНК. В то же время у больных этой группы наблюдались разнонаправленные изменения НК, сорбированных на эритроцитах: увеличение вкДНК при выраженном снижении вкРНК. Исход ХГН в терминальную ХПН сопровождался тенденцией к увеличению содержания вкДНК при снижении

вкРНК в плазме крови больных. В то же время у больных этой группы наблюдалось разнонаправленное изменение НК, сорбированных на эритроцитах: увеличение вкДНК при выраженном снижении вкРНК.

Таким образом, полученные нами результаты позволяют высказать предположение о том, что вкНК участвуют в механизмах прогрессирования ХБП. Кроме того, оппортунистические тренды адсорбции эритроцитами вкДНК и вкРНК и аккумуляции внеклеточных НК в плазме при ХПЛ и ХГН заставляют критически осмыслить уникальность ХБП на последней её стадии. Очевидно, что даже терминальная ХПН не нивелирует особенностей молекулярно-клеточных взаимодействий при разных нозологических вариантах в дебюте ХБП. Требуются дальнейшие исследования для уточнения механизмов реализации негативных эффектов вкНК при ХБП.

Список литературы

1. Муравлева Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Клюев Д.А., Танкибаева Н.У., Койков В.В. Внеклеточные нуклеиновые кислоты: происхождение и функции. Миниобзор // Современные проблемы науки и образования. – 2010. – №2. – С. 15-20.
2. Муравлева Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Телеуов М.К. и др. Содержание внеклеточных нуклеиновых кислот в плазме крови больных с гломерулопатиями и тубулопатиями // Современные проблемы науки и образования. – 2010. – №3. – С. 23-27.
3. Маркушева Л.И., Савина М.И., Решина В.М. и др. Ядерные белки хроматина в оценке эффективности лечения больных псориазом // Клиническая лабораторная диагностика. – 2000. – № 7. – С. 18-20.
4. Chen G.Y., Nuñez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage // Nat. Rev. Immunol. – 2010. – № 10. – P.826–837.
5. Hoy A.M., Buck A.H. Extracellular small RNAs: what, where, why? // Biochemical Society Transactions. – 2012. – Vol 40, part 4. – P. 886-890.
6. Mitra I., Nair N.K., Mishra P.K. Nucleic acids in circulation: Are they harmful to the host? // J. Biosci. – 2012. – № 37. – P. 301–312.
7. Nagata S., Kawane K. Autoinflammation by endogenous DNA // Adv. Immunol. – 2011. – № 110. – P.139–161.
8. Ermakov A.V., Konkova M.S., Kostyuk S.V. et al. Oxidized extracellular DNA as a stress signal in human cells // Oxid Med Cell Longev. – 2013. – Vol. 2013. – Article ID 649747. – URL: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/649747>.