

Роль перекисного окислення ліпидов в формуванні ендотеліальної дисфункції при діабетическій нефропатії

Р.Р.Гоюшова

Бакинський державний університет
Баку, Азербайджан

Исследованы показатели крови 46 больных с консервативной стадией хронической почечной недостаточности. При усугублении почечной недостаточности сахарным диабетом наблюдается развитие эндотелиальной дисфункции. Выявлена связь между ускорением процессов перекисного окисления липидов и снижением уровня оксида азота в периферической крови в развитии нарушений функций эндотелия при диабетической нефропатии.

Ключевые слова: хроническая почечная недостаточность, оксидативный стресс, диабетическая нефропатия.

ВВЕДЕНИЕ

Активные формы кислорода играют значительную роль в патогенезе многих хронических заболеваний, таких как сахарный диабет и хроническая почечная недостаточность [1]. В последние годы внимание исследователей привлечено к изучению функций эндотелия как в норме, так и при различных патологических процессах [2, 3]. Согласно данным литературы, снижение доступности оксида азота (NO), снижение уровней тетрагидробиоптерина (BH4) и глутатиона (GSH), окислительный стресс и накопление пероксидов выступают в качестве ведущих причин эндотелиальной дисфункции [4]. При сахарном диабете (СД) также отмечается раннее нарушение эндотелийзависимой вазодилатации. При этом в определенной степени изменяется синтез NO, который обладает мощной сосудорасширяющей, антиагрегационной, антипролиферативной и антиатерогенной

активностью. Нейтрализация этой молекулы соответственно приводит к повышению артериального давления (АД), развитию тромбозов и прогрессированию атеросклероза. Специальные методы выявляют выраженное нарушение эндотелийзависимой вазодилатации и оксидативный стресс у больных СД даже при сохранной фильтрационной функции почек. Патологический процесс при хронической почечной недостаточности (ХПН), развившийся на фоне сахарного диабета, еще более усугубляется, и при этом степень внутриклеточного и внеклеточного оксидативного стресса зависит от тяжести почечной недостаточности [5]. Ранняя инактивация молекулы NO при подобных патологиях обусловлена воздействием хронической гипергликемии, конечных продуктов гликозилирования, окислительных радикалов. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные процессам перекисного окисления липидов (ПОЛ) и компонентам антиоксидантной защиты при диабетической нефропатии, роль перекисного окисления липидов в развитии нарушений функций эндотелия до конца не выяснена.

Целью исследования было изучение формирования эндотелиальной дисфункции при изменениях в процессах перекисного окисления липидов у больных с диабетической нефропатией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данное исследование привлечено 46 больных, из которых 20 больных с диабетической нефропатией составляют основную и 26 с консервативной стадией ХПН — сравнительную группу. Контрольная группа — 15 здоровых людей без нарушений в соматическом, эндокринологическом и неврологическом статусах. У всех

ТАБЛИЦА 1

Клиническая характеристика исследуемых групп

Показатели	Основная группа, n=20	Сравнительная группа, n=26	Контрольная группа, n=15
Возраст	49±4,3	52±6,5	47±1,3
М/Ж	11/9	13/13	7/8
Артериальное давление, мм рт.ст.	156±11,6*	136±14,2	124±9,5
Креатинин, мкмоль/л	798,6±80,5*	638,9±43,6	88,4±2,9
Мочевина, ммоль/л	31,9±1,65	28,9±1,65	5,2±0,25
Глюкоза, ммоль/л	9,2±1,4	5,5±0,89	5,4±1,2

Примечания: * – сравнение с контрольной группой ($p < 0,05$); ^ – сравнение со сравнительной группой ($p < 0,05$)

больных проведены общие анализы крови и мочи, а также определена концентрация мочевины и креатинина в сыворотке крови посредством набора реактивов «Human» (Германия). В исследование привлечены больные со стабильным уровнем сахара в крови на базе приема инсулина. Средний уровень сахара в крови больных, входящих в основную группу, определен на основании динамического мониторинга. Данные больных, находящихся на гемодиализе, в нашем исследовании не использованы.

Определение концентрации оксида азота (NO) в периферической крови. Концентрация NO определена количественно с помощью реакции Грисса (коммерческий набор Thermo Scientific, Pierce Biotechnology, Rockford, IL, США). Этот тест основан на преобразовании нитрата в нитрит через действие фермента редуктазы нитрата. Уровни оксида азота в данном образце измерены путем определения концентрации нитратов и нитритов. Образцы ультра-фильтрованы через фильтры, отсеки которых приспособлены к конкретному молекулярному весу (10000) и проведены анализы. Концентрации нитритов определены с использованием стандартной кривой нитритов. Нитраты рассчитаны вычитанием начальной концентрации нитрита образца из измеренной концентрации нитрита после ферментативного превращения нитратов.

Определение концентрации продуктов перекисного окисления липидов в периферической крови. Уровень оксидативного стресса оценен по уровню концентрации в плазме крови продуктов перекисного окисления липидов малонового диальдегида (МДА) и диенового конъюгата (ДК). В основе метода определения МДА лежит реакция между малоновым диальдегидом и тиобарбитуровой кислотой, в результате которой при высокой температуре в кислой среде образуется окрашенный триметиновый комплекс с максимумом поглощения

при длине волны 532 нм [6]. Определение ДК проведено по методу Гаврилова В.Б. (1983), основанному на интенсивном поглощении конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов в области 232-234 нм [7].

При статистической обработке результатов исследования использованы параметрический (t-критерий Стьюдента) и непараметрический (Уилкоксона-Манн-Уитни) методы. Результаты выражены в виде среднего показателя ± стандартной средней погрешности ($M \pm m$). Резко отличающиеся числа устранены по критерию Фишера (Fischer), и при $p < 0,05$ результаты достоверны. [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клиническая характеристика больных дана в табл. 1. Как видно, в исследуемых группах возрастные и половые показатели в целом не отличаются. Высокий уровень концентрации креатинина и мочевины в крови в основной и сравнительной группах по сравнению с контрольной свидетельствует о лабораторном подтверждении наличия ХПН. Статистически высокие достоверные показатели в основной группе свидетельствуют о глубоком нарушении фильтрующей функции почек. Как видно из табл. 1, при диабетической нефропатии уровень глюкозы и артериальное давление в сравнительной группе относительно выше по сравнению с контрольной.

Показатели ПОЛ в крови даны на рис. 1. У больных с диабетической нефропатией в сравнительной группе наблюдается относительно высокий уровень МДА и ДК. Это свидетельствует об усугублении патологического процесса и увеличении количества осложнений ХПН, сопровождаемых сахарным диабетом. Активизация процессов перекисного окисления липидов в обеих группах с ХПН аналогична резуль-

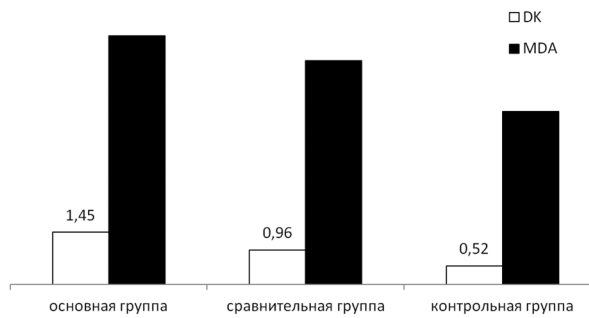


Рис. 1. Показатели DK (E233/мл) и MDA (нмоль/мл) в периферической крови.

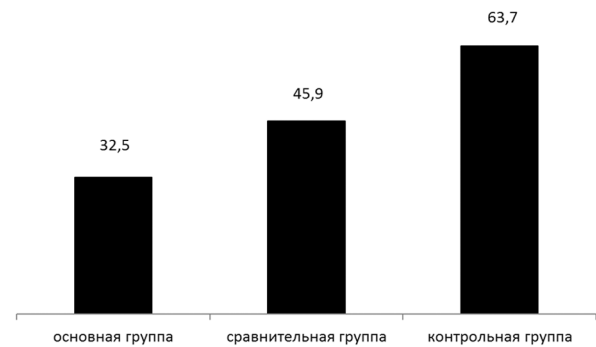


Рис. 2. Показатели NO (мкмоль/л) в исследуемых группах.

татам, полученным другими исследователями [9, 10]. Эти исследования косвенно подтверждают роль изменений в процессах ПОЛ в патогенезе осложнений, происходящих при ХПН.

При сравнении уровня оксида азота у больных с диабетической нефропатией в периферической крови в исследуемых группах выявлено резкое снижение показателей как в основной, так и сравнительной группе по сравнению с контрольной (рис. 2).

В литературе дается несколько объяснений причин низкого уровня оксида азота при почечной недостаточности. Одним из наиболее часто ссылаемых аргументов является ограничение по разным причинам синтеза L-аргинина как основного источника оксида азота при ХПН [11, 12]. Торможение активности NO-синтаз также способствует снижению уровня оксида азота при почечной недостаточности. [13]. Результаты наших исследований подтверждают, что одной из причин снижения уровня NO в крови при ХПН, сопровождаемого сахарным диабетом, является эндотелиальная дисфункция. Нарушение функций эндотелия — это не только следствие нарушения функций почек, при которых в кровь выделяются токсичные азотистые продукты. Также в результате ускорения процессов ПОЛ происходит повреждение эндотелиальных клеток свободными радикалами. И это, соответственно, приводит к торможению эндотелиальных NO-синтаз и снижению уровня NO в периферической крови. Согласно результатам проведенных исследований, основными причинами прогрессирования почечной недостаточности, приводящими к летальному исходу, являются сердечно-сосудистые осложнения, при которых повышенное артериальное давление является результатом снижения синтеза эндогенного оксида азота [14, 15]. В нашем исследовании у больных с ХПН, вошедших в основную группу,

также наблюдается повышенное артериальное давление и высокий уровень глюкозы в крови относительно двух других групп.

ВЫВОДЫ

Таким образом, факт активизации процессов перекисного окисления липидов, являющийся одним из основных причин развития эндотелиальной дисфункции у больных с диабетической нефропатией, не вызывает сомнений. Своевременная оценка изменений в процессах перекисного окисления липидов при ХПН, сопровождаемого сахарным диабетом, и принятие необходимых терапевтических мер могут предупредить развитие эндотелиальной дисфункции и, соответственно, повлиять на течение ХПН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Psotova J. Photoprotective properties of Prunella vulgaris and rosmarinic acid on human keratinocytes / J. Psotova, A. Svobodova, H. Kolarova, D. Walterova // J. Photochem Photobiol B. — 2006. — №84. — P. 167-174.
2. Ребров А.П. Дисфункция эндотелия у больных хроническим гломерулонефритом в различных стадиях почечной недостаточности / А.П.Ребров, Н.Ю.Зеленукина // Нефрология и диализ. — 2001. — Т. 3, №4.
3. Goligorsky M.S. Nitric Oxide in acute renal failure: NOS versus NOS / M.S.Goligorsky, Sergey V. Brodsky, Eisei Noiri // Kidney International. — 2002. — Vol. 61. — P. 855-861.
4. Suresh D.R. Lipid Peroxidation and Total Antioxidant Capacity in Patients with Chronic Renal Failure / D.R.Suresh, C.R.Wilma, S.Delphine, R.Agarwal // Asian Journal of Biochemistry. — 2008. — №3. — P. 315-319.
5. Massy Z.A. Oxidative stress and chronic renal failure markers and management / Z.A.Massy, T.N. Khoa // J. Nephrol. — 2002. — №15 (4). — P. 336-341.
6. Osakava T. Coloring conditions of thiobarbituric acid test for detection lipid peroxides / T.Osakava,

- S.Matshushita // *Lipids*. — 1980. — Vol. 15, №3. — P. 137-140.
7. Гаврилова В.Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов / В.Б.Гаврилова, А.Р.Гаврилова, Н.Ф.Хмара // *Лаб. дело*. — 1988. — №2. — С. 60-64.
 8. Mehta C.R. Exact inference in categorical data / C.R.Mehta, N.R.Patel // *Biometrics*. — 1997. — Vol. 53 (1). — P. 112-117.
 9. Zwolińska D. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in children with chronic renal failure / D.Zwolińska, W. Grzeszczak, K.Kiliś-Pstrusińska et al. // *Pediatric Nephrology*. — 2004. — Vol. 19. — Iss. 8. — P. 888-892
 10. De Vecchi A.F. Free and total plasma malondialdehyde in chronic renal insufficiency and in dialysis patients / A.F. De Vecchi, F.Bamonti, C.Novembrino et al. // *Nephrol Dial Transplant*. — 2009. — №24 (8). — P. 2524-2529.
 11. Chris Baylis. Nitric oxide deficiency in chronic kidney disease / Chris Baylis // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* — 2008. — №294. — P. 1-9.
 12. Jens Paddauer. Nitric oxide in chronic renal failure / Jens Paddauer, Frank Pistrosch, Eckhart Bussemaker // *Kidney International*. — 2005. — Vol. 67. — P. 1665-1667.
 13. Vaziri N.D. Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH oxidase in renal insufficiency / N.D.Vaziri, M.Dicus, N.D.Ho et al. // *Kidney Int*. — 2003. — №63. — P. 179-185.
 14. Шахмалова М.Ш. Вазоактивные факторы эндотелия сосудов у больных инсулин-независимым сахарным диабетом с поражением почек / М.Ш.Шахмалова, М.В.Шестакова, Л.А.Чугунова, И.И.Дедов // *Тер. архив*. — 1996. — №6. — С. 43-45.
 15. Иванова О.В. Эндотелиальная дисфункция — важный этап атеросклеротического поражения сосудов (обзор литературы-1) / О.В.Иванова, Г.Н.Соболева, Ю.А.Карпов // *Тер. архив*. — 1997. — №6. — С. 75-78.

Р.Р.Гояшова. Роль перекисного окисления липидів у формуванні ендотеліальної дисфункції при діабетичній нефропатії. Баку, Азербайджан.

Ключові слова: хронічна ниркова недостатність, оксидативний стрес, діабетична нефропатія

Досліджено показники крові 46 хворих з консервативною стадією хронічної ниркової недостатності. При посиленні ниркової недостатності цукровим діабетом спостерігається розвиток ендотеліальної дисфункції. Виявлено зв'язок між прискоренням процесів перекисного окислення ліпідів і зниженням рівня оксиду азоту в периферичній крові у розвитку порушень функцій ендотелію при діабетичній нефропатії.

R.R.Goyushova. The role of lipid peroxidation in formation of endothelial dysfunction in diabetic nephropathy. Baku, Azerbaijan.

Key words: chronic kidney disease, oxidative stress, diabetic nephropathy.

Was investigated the blood parameters of 46 patients with conservative stage of chronic renal failure. The development of endothelial dysfunction was observed with worsening of renal failure from diabetes. Was identified a relationship between the acceleration of lipid peroxidation and decreased levels of nitric oxide in the peripheral blood in the development of endothelial dysfunction in diabetic nephropathy.

Надійшла до редакції 19.07.2013 р.