

© А.Ж.Карабаева, А.М.Есаян, И.Г.Каюков, 2008
УДК 577.175.532+616-005.1-08+611.018.74]-08

А.Ж. Карабаева¹, А.М. Есаян¹, И.Г. Каюков¹

КОНЦЕНТРАЦИЯ АЛЬДОСТЕРОНА, СОСТОЯНИЕ ГЕМОСТАЗА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ФУНКЦИИ У БОЛЬНЫХ НА ПРОГРАММНОМ ГЕМОДИАЛИЗЕ И ВЛИЯНИЕ НА НИХ ТЕРАПИИ СПИРОНОЛАКТОНОМ

A.Zh. Karabaeva, A.M. Essaian, I.G. Kayukov

CONCENTRATION OF ALDOSTERONE, STATE OF HEMOSTASIS AND ENDOTHELIAL FUNCTION IN PATIENTS ON PROGRAMMED HEMODIALYSIS AND EFFECTS OF EXPOSURE TO THERAPY WITH SPIRONOLACTONE

¹ Кафедра нефрологии и диализа факультета последипломного обучения Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Изучить уровень концентрации альдостерона плазмы, состояние системы гемостаза и функции эндотелия у больных с хронической болезнью почек (ХБП) V стадии на программном гемодиализе и оценить влияние на них терапии спиронолактоном. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** 83 пациента с ХБП V стадии на программном гемодиализе. У обследованных определяли концентрацию альдостерона плазмы (КАП), оценивали функциональное состояние эндотелия с помощью биохимических маркеров – ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI-1), тканевого активатора плазминогена (t-PA), эндотелина-1, состояние тромбоцитарного и коагуляционного звеньев гемостаза оценивали по морфофункциональной активации и агрегации тромбоцитов, концентрации фибриногена по Клауссу, активности антитромбина-III (AT-III), уровня D-димера методом латексной агглютинации до и после 6-месячного курса терапии спиронолактоном. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** У всех больных исходно имелось значительное повышение уровня альдостерона крови – $478 \pm 99,96$ пг/мл (норма – до $160,0 \pm 29,23$ пг/мл). На фоне терапии спиронолактоном отмечено достоверное снижение уровня альдостерона до $346,45 \pm 58,1$ пг/мл ($p=0,009$), достоверное снижение активности маркеров эндотелиальной дисфункции: эндотелина-1 с $0,63 \pm 0,09$ fmol/ml до $0,23 \pm 0,03$ ($p=0,002$), PAI-1 с $5,69 \pm 0,24$ до $3,06 \pm 0,25$ U/ml ($p<0,001$); повышение уровня t-PA с $5,03 \pm 0,3$ до $5,64 \pm 0,3$. Исследование системы гемостаза выявило активацию тромбоцитарного звена: повышение суммы активных форм тромбоцитов и увеличение числа тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты, за счет образования внутрисосудистых агрегатов малого размера ($p<0,05$), повышение концентрации фибриногена ($p<0,05$) по сравнению с группой здоровых лиц, значения AT-III находились на нижней границе референтных величин, 30% больных имели повышенный уровень D-димера. Достоверных изменений в показателях гемостаза после лечения спиронолактоном не выявлено. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Терапия спиронолактоном у больных на программном гемодиализе приводит к улучшению состояния эндотелиальной функции. При этом сохраняется дисбаланс в системе гемостаза, характеризующийся активацией тромбоцитов, напряжением в системе AT-III, повышением уровня D-димера, что может повышать риск развития сосудистых катастроф у больных с хронической болезнью почек.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, хронический гемодиализ, альдостерон, фибринолитическая система, система гемостаза, эндотелиальная дисфункция.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to study the level of the concentration of plasma aldosterone, the state of the hemostasis system and function of endothelium in patients with the V stage chronic kidney disease (CKD) on programmed hemodialysis and to estimate the effects of spironolactone therapy on them. **PATIENTS AND METHODS.** In the investigated 83 patients with V stage CKD on programmed hemodialysis the following indicators were studied: determination of the concentration of plasma aldosterone (CPA), assessment of the functional state of the endothelium using biochemical markers – plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), tissue plasminogen activator (t-PA), endothelin-1, state of thrombocytic and coagulation link of hemostasis were estimated by morphofunctional activation and aggregation of thrombocytes, concentration of fibrinogen after Clauss, activity of antithrombin-III (AT-III), D-dimer level by the method of latex agglutination before and after 6-month course of therapy with spironolactone. **RESULTS.** All the patients initially had considerably elevated level of blood aldosterone – 478 ± 99.96 pg/ml (normal – up to 160.0 ± 29.23 PG/MK0 pg/ml). Against the background of spironolactone therapy there was a reliably decreased level of aldosterone up to 346.45 ± 58.1 pg/ml ($p=0.009$), reliably decreased activity of the endothelial dysfunction markers: endothelin-1 from 0.63 ± 0.09 fmol/ml to 0.23 ± 0.03 ($p=0.002$), PAI-1 from 5.69 ± 0.24 up to 3.06 ± 0.25 U/ml ($p<0.001$); elevation of the level of t-PA from 5.03 ± 0.3 up to 5.64 ± 0.3 . The investigation of the hemostasis system revealed activation of the thrombocytic link: increased sum of active forms of thrombocytes and greater number of thrombocytes involved in aggregates at the expense of the formation of intravascular aggregates of small size ($p<0.05$), increased concentration of fibrinogen ($p<0.05$) as compared with the group of healthy subjects, the value of AT-iii was at the low border of the reference values, 30% of patients had higher level of D-dimer. No reliable changes in the indices of hemostasis after treatment with spironolactone were found. **CONCLUSION.** Spironolactone therapy in patients on programmed hemodialysis results in the better state of the endothelium function. The disbalance in the system of hemostasis remains the same, and is characterized by activation of thrombocytes, tension in the system AT-III, elevation of the D-dimer level, that might increase risk of the development of vascular catastrophies in patients with chronic kidney disease.

Keywords: chronic kidney disease, chronic hemodialysis, aldosterone, fibrinolytic system, hemostasis system, endothelial dysfunction.

Каюков И.Г. 197022, Санкт-Петербург, Россия, тел.: (812)-346-39-26, факс: (812)-234-91-91; E-mail: kaukov@nephrolog.ru

ВВЕДЕНИЕ

Терминальная стадия хронической почечной недостаточности характеризуется высоким риском развития кардиоваскулярной патологии, что значительно сокращает продолжительность жизни пациентов на почечной заместительной терапии [1]. В исследованиях, выполненных на пациентах с умеренной почечной дисфункцией, убедительно доказано, что падение скорости клубочковой фильтрации ассоциируется с повышенной кардиоваскулярной заболеваемостью и смертностью [2, 3]. Снижение почечной функции характеризуется закономерной гиперактивацией ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), которая играет особую роль в регуляции сосудистого тонуса и пролиферативной активности клеток меди. Этот эффект реализуется через синтез главного эффектора данной системы, мощного вазоконстриктора ангиотензина II (А II) и альдостерона. Как известно, в образовании А II ключевую роль играет ангиотензинпревращающий фермент, присутствующий в эндотелиальных клетках, что обеспечивает его образование на поверхности эндотелия. Исследованиями последнего десятилетия доказана не менее важная роль в развитии эндотелиальной дисфункции альдостерона [4]. Этот эффект достигается воздействием данного стероидного гормона на систему ингибиторов и активаторов плазминогена, синтезируемых сосудистым эндотелием. Поэтому гиперпродукция А II и альдостерона приводит к состоянию активации эндотелия, трансформирующейся в дальнейшем в дисфункцию эндотелия (ДЭ), непременным условием развития которой является гиперактивация РААС.

В многочисленных исследованиях показано, что ДЭ сопровождалась повышением уровня PAI-1, фактора Виллебранда, клеточных молекул адгезии, изменением эндотелийзависимой вазодилатации сосудов предплечья в ответ на стимуляцию ацетилхолином, наличием сужений артерий сетчатки [5–7].

Важным аспектом является участие эндотелия в гемостазиологических реакциях. С одной стороны, в клетках эндотелия синтезируются такие факторы гемостаза, как t-PA, PAI-1, тканевой фактор, тромбомодулин, рецепторы плазмина, активаторов плазминогена [8], с другой – эндотелий предоставляет свою поверхность для многих процессов.

Гиперактивация РААС влечет за собой закономерную гиперпродукцию минералкортикоидного гормона альдостерона. В настоящее время альдостерон рассматривается (как в совокупности с А II, так и самостоятельно) в качестве основного

фактора, определяющего повреждение почек и сердечно-сосудистой системы у пациентов с ХБП [9–11]. Свое действие альдостерон оказывает через стимуляцию специфических минералкортикоидных рецепторов (МР). Исследованиями последнего десятилетия идентифицированы, помимо классических эпителиальных, и неэпителиальные МР, рецепторы, локализованные в миокарде, сосудах, центральной нервной системе [12]. Именно с воздействием на эти неэпителиальные МР связано воздействие альдостерона на патологию сердечно-сосудистой системы. С целью коррекции указанных нарушений пациентам с ХБП к стандартной терапии добавляют блокатор альдостероновых рецепторов спиронолактон. Как показано в рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании RALES Mortality Trial [13], обнаружена значительно более низкая смертность в группе больных, леченных спиронолактоном, по сравнению с контрольной группой. Проведены также исследования, изучающие применение спиронолактона у пациентов на хроническом гемодиализе, согласно которым у пациентов с олигоанурией допустимо применение малых доз спиронолактона без риска получения значимой гиперкалиемии [14, 15]. Вместе с тем нельзя не отметить, что исследования эти немногочисленны и выполнены на небольшом числе пациентов, остаются неуточненными механизмы влияния альдостерона на течение ХБП и ее осложнений у пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности, получающих лечение программным гемодиализом. В связи с этим целью нашего исследования явилась оценка влияния терапии спиронолактоном на КАП, состояние гемостаза и функцию эндотелия у больных с ХБП V стадии на программном гемодиализе (ГД).

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Нами обследовано 83 пациента с ХБП V стадии (анурия), получающих лечение ГД. Средняя длительность терапии гемодиализом составила $7,8 \pm 0,5$ лет. Из 83 пациентов у 67 (80,7%) течение основного заболевания осложнилось развитием артериальной гипертензии. При этом средняя длительность гипертензии составила $13,3 \pm 1$ лет. У обследованных пациентов определялись концентрация альдостерона плазмы (КАП, иммуноферментный анализ), уровень PAI-1 (метод хромогенных субстратов), t-PA и эндотелина-1 (иммуноферментный анализ), оценка морфофункциональной активности и агрегации тромбоцитов при микроскопии фиксированных глутаральдегидом тромбоцитов, концентрации фибриногена по Клауссу, активности АТ-III (метод хромогенных субстратов), уровня D-

Показатели КАП, PAI-1, t-PA, эндотелина-1 и активности тромбоцитов у пациентов до и после лечения спиронолактоном, $\bar{X} \pm m$

Показатель	Норма	До терапии спиронолактоном	После 6 мес. терапии спиронолактоном	(p)
КАП, pg/ml	160	478,0 ± 99,96	346,45 ± 58,1	p < 0,001
PAI-1, U/ml	3,5	5,69 ± 0,24	3,06 ± 0,25	p < 0,001
t-PA, ng/ml	1-12	5,03 ± 0,3	5,64 ± 0,3	p < 0,01
Эндотелин-1, fmol/ml	0,26 ± 0,05	0,63 ± 0,09	0,23 ± 0,03	p < 0,01
Сумма активных форм тромбоцитов	7,9-17,7	22,1 ± 3,99	20,5 ± 4,25	p > 0,05
Число тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты	6,1-7,4	9,6 ± 2,99	8,7 ± 3,47	p > 0,05
Концентрация фибриногена, г/л	1,8-3,5	4,3 ± 0,59	3,9 ± 0,6	p > 0,05
АТ-III, %	75-125	87,1 ± 7,55	84,2 ± 8,1	p > 0,05

димера (метод латексной агглютинации) до и после 6-месячного курса терапии спиронолактоном в дозе 25 мг/сут на фоне терапии ингибиторами АПФ, диуретиками, β-блокаторами. Забор венозной крови для измерения указанных показателей производился утром до сеанса гемодиализа. Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. Различия признавали достоверными при p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительная оценка указанных параметров представлена в таблице, из данных которой следует, что у всех больных исходно имелось значительное повышение КАП до 478±99,96 pg/ml, PAI-1 до 5,69±0,24 U/ml, эндотелина-1 до 0,63±0,09 fmol/ml, значения t-PA были в пределах нормы (5,03±0,3 ng/ml). При исследовании системы гемостаза выявлена активация тромбоцитарного звена: повышение суммы активных форм тромбоцитов и увеличение числа тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты, за счет образования внутрисосудистых агрегатов малого размера (p<0,05) по сравнению с группой здоровых лиц, повышение концентрации

фибриногена (p<0,05), значения АТ-III находились на нижней границе референтных величин, 30% больных имели повышенный уровень D-димера. На фоне терапии спиронолактоном отмечено достоверное снижение КАП до 346,45±58,1 pg/ml (p<0,001), достоверное снижение активности маркеров эндотелиальной дисфункции: эндотелина-1 до 0,23±0,03 fmol/ml (p=0,002), PAI-1 до 3,06±0,25 U/ml (p<0,001); повышение уровня t-PA до 5,64±0,3 ng/ml. Достоверных изменений в показателях гемостаза после лечения спиронолактоном не выявлено. Корреляционный анализ позволил выявить достоверную отрицательную взаимосвязь КАП с возрастом пациентов (r = -0,31, p = 0,006) и достоверную взаимосвязь между уровнем PAI-1 и длительностью АГ (r = 0,28, p = 0,024).

При обработке результатов исследования с помощью применения коэффициента ранговой корреляции Спирмена нам удалось проследить отрицательную зависимость концентрации между КАП и t-PA (рисунок).

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования мы получили данные о том, что у пациентов с V стадией ХБП значительно повышена КАП и показатели эндотелийзависимого звена гемостаза (PAI-1, эндотелина-1), при этом концентрация t-PA находится в пределах нормальных величин. Исследованием системы гемостаза у больных выявлена активация тромбоцитарного звена: достоверно повышена сумма активных форм тромбоцитов и увеличено число тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты, за счет образования внутрисосудистых агрегатов малого размера и повышена концентрация фибриногена, значения АТ-III находились на нижней границе референтных величин, 30% больных имели повышенный уровень D-димера. Это согласуется с представлениями о существенной роли РААС и дисфункции эндотелия в прогрессировании повреждений почек. Патогенетическая роль альдостерона в развитии почечных и кардиальных повреждений установлена в

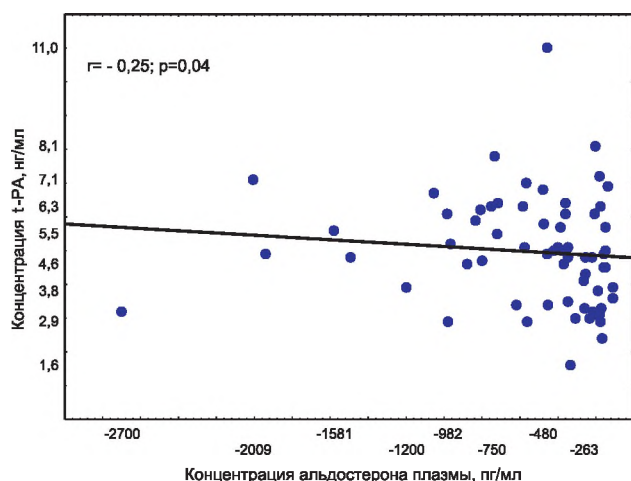


Рисунок. Взаимосвязь между КАП и концентрацией t-PA у больных с ХБП V стадии.

многочисленных экспериментальных клинических исследованиях [9, 11, 16, 17]. Показано, что адреналэктомия замедляет прогрессирование нефропатии у крыс с частичным удалением почечной ткани, несмотря на адекватную заместительную терапию глюкокортикоидами, а введение альдостерона и соли как интактным крысам [18], так и животным с односторонней нефрэктомией [19, 20], способствовало развитию гипертензии, протеинурии, гломерулярных и тубулоинтерстициальных повреждений в виде фиброза и аккумуляции коллагена в интерстиции [21]. Кроме того, введение экзогенного альдостерона препятствовало реализации ренопротекторного эффекта блокады А II у спонтанно гипертензивных крыс с частичной аблацией почечной паренхимы [22] и у крыс линии SHRSP [23]. Как полагают в настоящее время, альдостерон проявляет прямое воздействие на гладкомышечные клетки сосудов и кардиомиоциты, индуцируя фиброз и гипертрофию этих тканей. Более того, данный стероидный гормон участвует в процессе фиброгенеза за счет прямого воздействия на соответствующие рецепторы, локализованные в цитозоле сосудистых фибробластов [9].

Следующим важным механизмом, с помощью которого альдостерон вызывает повреждение органов-мишеней, включая миокард и почки, может быть его воздействие на систему активаторов плазминогена. Этот эффект РААС является одним из основных путей защиты от развития интраваскулярного тромбоза и играет важную роль в ремоделировании сосудов и тканей. Внутрисосудистый баланс в фибринолитической звене системы гемостаза в значительной мере определяется конкурирующим воздействием активаторов плазминогена и его ингибиторов, наиболее важными из которых являются PAI-1 и t-PA. Активаторы и ингибиторы плазминогена локально синтезируются в сосудистом эндотелии. Гиперпродукция альдостерона ведет к усилению экспрессии PAI-1, это содействует подавлению системы фибринолиза и развитию повреждений микроциркуляторного русла [10, 24, 25], что в конечном итоге способствует альтерации и фиброзированию тканей.

Одним из потенциальных патогенетических механизмов повреждения миокарда и сосудов является развитие дисфункции эндотелия. Альдостерон, увеличивая экспрессию PAI-1 в эндотелиальных клетках и гладкомышечных клетках сосудов, способствует развитию и прогрессированию эндотелиальной дисфункции [26, 27].

Результаты нашего исследования выявили достоверное снижение КАП, PAI-1, эндотелина-1 и достоверное повышение уровня t-PA после приема

спиронолактона. При этом достоверных изменений в показателях тромбоцитарного звена гемостаза после лечения спиронолактоном не выявлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты многочисленных экспериментальных и клинических исследований подтверждают, что альдостерон является независимым фактором развития и прогрессирования почечных и сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с ХБП. Дисфункции эндотелия, нарушения в фибринолитической системе и системе гемостаза способствуют повышенному риску развития сосудистых катастроф у пациентов с ХБП, однако уточнение их роли в этих процессах требует дальнейшего изучения. Терапия спиронолактоном, блокируя неблагоприятные эффекты альдостерона, приводит к улучшению функционального состояния эндотелия и показателей фибринолитической системы.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Collins AJ, Schuling L, Ma JZ, Herzog CH. Cardiovascular disease in end-stage renal disease patients. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: S26–S29
- Schillaci G, Reboli G, Verdecchia P. High-normal serum creatinine concentration is a predictor of cardiovascular risk in essential hypertension. *Arch Intern Med* 2001; 161: 886–891
- Garg AX, Clark FC, Haynes RB, House AA. Moderate renal insufficiency and the risk of cardiovascular mortality: results from the NHANES I. *Kidney Int* 2002; 61: 1486–1494
- Weyer C, Yudkin JS, Stehouwer CD et al. Humoral markers of inflammation and endothelial dysfunction in relation to adiposity and in vivo insulin action in Pima Indians. *Atherosclerosis* 2002; 161: 233–242
- Festa A, D'Agostino R Jr, Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes* 2002; 51: 1131–1137
- Meigs JB, Hu FB, Rifai N, Manson JE. Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2004; 291: 1978–1986
- Rossi R, Cioni E, Nuzzo A et al. Endothelial-dependent vasodilation and incidence of type 2 diabetes in a population of healthy postmenopausal women. *Diabetes Care* 2005; 28: 702–707
- Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF Jr, Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 1149–1160
- Epstein M. Aldosterone as a mediator of progressive renal dysfunction: evolving perspectives. *Intern Med* 2001 Jul; 40(7): 573–583
- Epstein M. Aldosterone receptor blockade and the role of eplerenone: evolving perspectives. *Nephrol Dial Transpl* 2003; 18(10): 1984–1992
- Weber KT. Aldosterone in congestive heart failure. *N Engl J Med* 2001; 345: 1689–1697
- Fuller PJ, Young MJ. Mechanisms of mineralocorticoid action. *Hypertension* 2005; 46: 1227–1246
- Pitt B, Zannad F, Remme WJ et al. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 1999; 341: 709–717
- Gross E, Rothstein M, Dombek S, Juknis H. Effect of Spironolactone on Blood Pressure and the Renin-Angiotensin-

Aldosterone System in Oligo-Anuric Hemodialysis Patients. *Am J Kidney Dis* 2005; 46(1): 94–101

15. Saudan P, Mach F, Perneger Th et al. Safety of low-dose spironolactone administration in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2359–2363

16. Arima S, Kohagura K, Xu HL et al. Nongenomic vascular action of aldosterone in glomerular microcirculation *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 (9): 2253–2255

17. Norris K, Vaughn C. The role of rennin-angiotensin-aldosterone system in chronic kidney disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2003; 1 (1): 51–63

18. Nishiyama A, Yao L, Nagai Y, Miyata K, Yoshizumi M, Kagami S et al. Possible contributions of reactive oxygen species and mitogen-activated protein kinase to renal injury in aldosterone/salt-induced hypertensive rats. *Hypertension* 2004; 43: 841–848

19. Blasi ER, Rocha R, Rudolph AE, Blomme EA, Polly ML, McMahon EG. Aldosterone/salt induces renal inflammation and fibrosis in hypertensive rats. *Kidney Int* 2003; 63: 1791–1800

20. Peng H, Carretero OA, Raij L, Yang F, Kapke A, Rhaleb NE. Antifibrotic effects of N-acetyl-seryl-aspartyl-Lysyl-proline on the heart and kidney in aldosterone-salt hypertensive rats. *Hypertension* 2001; 37: 794–800

21. Nishiyama A, Abe Y. Molecular mechanisms and

therapeutic strategies of chronic renal injury: renoprotective effects of aldosterone blockade. *J Pharmacol Sci* 2006; 1: 9–16

22. Greene EL, Kren S, Hostetter TH. Role of aldosterone in the remnant kidney model in the rat. *J Clin Invest* 1996; 98: 1063–1068

23. Rocha R, Chander PN, Khanna K, Zuckerman A, Stier CT Jr. Mineralocorticoid blockade reduces vascular injury in stroke-prone hypertensive rats. *Hypertension* 1998; 31: 451–458

24. Brown NJ, Kim K-S, Chen Y-Q et al. Synergistic Effect of Adrenal Steroids and Angiotensin II on Plasminogen Activator Inhibitor-1 Production1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2000; 85(1): 336–344

25. Connell JMC, Davies E. The new biology of aldosterone. *Journal of Endocrinology* 2005; 186: 1–20

26. Cases A, Bragulat E, Serradell M et al. Endothelial dysfunction in chronic renal failure. *Nephrologia* 2003; 23(4): 42–51

27. Landray MJ, Wheeler DC et al. Inflammation, Endothelial dysfunction and platelet activation in patients with chronic kidney disease: the chronic renal impairment in Birmingham (CRIB) Study. *Am J Kidney Dis* 2004; 43 (2): 244–253

Поступила в редакцию 10.03.2008 г.

Принята в печать 17.04.2008 г.