

© И.В.Мухин, В.Ю.Николенко, Г.А.Игнатенко, 2003
УДК 616.611-002-036-092:661.717

И.В. Мухин, В.Ю. Николенко, Г.А. Игнатенко

РОЛЬ ОКСИДА АЗОТА В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

I.V.Mukhin, V.Yu.Nikolenko, G.A.Ignatenko

ROLE OF NITRIC OXIDE IN PATHOGENESIS OF CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS (A REVIEW OF LITERATURE)

Кафедры терапии, профессиональных болезней, пропедевтики внутренних болезней Донецкого государственного медицинского университета им. М.Горького, Украина

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит, оксид азота.
Key words: chronic glomerulonephritis, nitric oxide.

Оксид азота (NO) – биологический медиатор, регулирующий многие физиологические и патологические процессы. Он синтезируется из L-аргинина при помощи фермента NO-синтазы в присутствии молекул кислорода [6]. NO является наиболее сильным из известных вазодилаторов, причем в сосудах малого калибра он синтезируется в больших концентрациях, чем в крупных. Он обладает прямым инотропным эффектом, тормозит пролиферацию гладкомышечных клеток и тем самым предотвращает развитию атеросклеротических процессов [7]. В норме NO синтезируется в постоянном количестве, что позволяет поддерживать внутриклеточное содержимое кальция в миоцитах сосудов, обеспечивая процессы их расслабления. NO принимает участие в регуляции артериального давления, вазодилатации, поддержании адаптации и функционировании тромбоцитов [22, 31] за счет способности активировать гуанилатциклазу, которая посредством усиления образования циклического гуанилатмонофосфата определяет функциональное состояние тромбоцитов [5], участие которых в процессах прогрессирования гломерулонефрита достаточно хорошо изучено [6].

Время жизни молекулы NO составляет приблизительно 0,1-1 секунды, поскольку в ее состав включен свободный радикал с одним непарным электроном, с помощью которого NO активно вступает в биохимические реакции. Стабилизация молекулы NO происходит за счет включения в ее динитрозольные комплексы железа с тиоловыми лигандами. Созданные в процессе такой реакции комплексы являются тканевыми депо NO. Их можно обнаружить в тканях внутренних органов при

помощи метода гистохимического окрашивания двухвалентным железом [7].

Основными биохимическими молекулами, вступающими во взаимодействие с NO, являются: гуанилатциклаза, гемоглобин, митохондриальные ферменты, ферменты цикла Кребса, ферменты, участвующие в биосинтезе белка и дезоксирибонуклеиновых кислот [1].

Соединение NO с железо-связывающим звеном ферментов является наиболее прочным и приводит к изменению активности самого фермента. Взаимодействие NO с молекулами-мишенями играет роль в регуляции цитотоксичности макрофагов, в процессе расслабления миоцитов сосудистой стенки, желудочно-кишечного тракта, в транспортировке кислорода и окислении аденозинтрифосфорной кислоты [19]. Вторая важная мишень для NO – это белки, содержащие SH-группы, при помощи которых NO может вмешиваться в такой важный клеточный процесс, как биосинтез белка. Третья мишень NO – активные формы кислорода, при взаимодействии с которыми образуются токсичные соединения – пероксинитриты, которые по токсичности во много раз превосходят сам NO. Окисление пероксинитритов играет важную роль в патофизиологических процессах, включая внутрисосудистую коагуляцию, септический шок, тромбообразование [3]. Пероксинитриты способны усиливать ишемию и вызывать повреждение эпителиальных клеток канальцев при острой почечной недостаточности в эксперименте [32].

В настоящее время известны три изоформы NO: нейтральная (n-NOS), индуцибельная (i-NOS), эндотелиальная (e-NOS) [2]. Каждая из них имеет особенности синтеза и локализации. Так, n-NOS

локализуется преимущественно в эндотелиальных клетках сосудов, тромбоцитах, эндотелии мозгового слоя почек, эфферентных артериолах клубочка; e-NOS – в эндотелиальных клетках сосудов, тромбоцитах, гломерулах, мезангии, афферентных артериолах клубочка; i-NOS появляется в клетках только после стимуляции химическими веществами и поэтому в норме она отсутствует. В условиях патологии ее можно обнаружить в клетках сердца, макрофагах, эпителиоцитах кишечника, гепатоцитах, но только после стимуляции организма в условиях эксперимента бактериальными эндотоксинами или медиаторами воспаления [6]. Накоплению NO способствует свободное железо (феритин), которое является мощным стимулятором депонирования его в форме динитрозольных комплексов, что приводит к восстановлению функции эндотелия и снижению артериального давления.

Долговременное ингибирование синтеза NO ведет к развитию гипертонии, повышению концентрации натрия в крови, понижению клубочковой фильтрации, развитию вазоконстрикции, увеличению канальцевой реабсорбции воды, что в свою очередь потенцирует развитие артериальной гипертензии и может замыкать порочный круг патологического процесса, исходом которого является гломерулосклероз и почечная недостаточность [6]. В эксперименте показано, что введение аргинина – предшественника NO снижает артериальное давление и улучшает функцию почек, а при экспериментальном гломерулонефрите снижает степень выраженности фиброзных изменений в почечной паренхиме [25]. В этой связи аргинин считают веществом, обладающим нефропротекторными свойствами [2], поскольку введение его крысам, перенесшим постишемическую острую почечную недостаточность, приводит к более быстрому в сравнении с контролем восстановлению перфузии почечных капилляров [17]. Внутривенное введение аргинина при хронической почечной ишемии, как в эксперименте, так и в клинике, показало увеличение продукции NO, и как следствие этого – довольно быструю регенерацию и восстановление основных почечных функций по сравнению с контрольной группой [29]. В одной из клинических работ показана роль аргинина в коррекции эндотелиальной дисфункции у больных терминальной почечной недостаточностью, находящихся на лечении программным гемодиализом. Авторы предполагают, что аргинин может занять достойное место в лечении артериальной гипертензии и сосудистых нарушений у диализных больных [15].

Гиперпродукция NO обусловлена в основном за счет фракции i-NOS. Этот процесс происходит не

только в сосудах, но и в миокарде, нервной системе, секреторных органах [1]. В высоких концентрациях NO индуцирует появление цитотоксичности и потенцирует развитие и поддержание аутоиммунного процесса [1].

Свободнорадикальные соединения являются агрессивными веществами [10], поэтому избыток синтеза биологически агрессивного вещества в химической реакции можно рассматривать как трансформацию нормы в патологию. Основным цитотоксический эффект NO проявляется в результате образования пероксинитритов – веществ с высокой токсичностью, основное биологическое действие которых основано на окислении протеинов цитомембран, белковолипидных комплексов рецепторов клеток и дезоксирибонуклеиновых кислот. В результате этого происходит изменение антигенных свойств клеток и развитие процессов аутоиммунизации. Предполагают, что прямой цитотоксический эффект в отношении дезоксирибонуклеиновых кислот, возможно, лежит в основе апоптоза клеток [6].

Взаимодействие NO с активными формами кислорода вызывает генерацию других высокотоксичных веществ, обладающих прямым нефротоксичным действием. Эти реакции имеют большое значение для метаболической активации внутриклеточных процессов, в которых ферменты переходят из менее активного состояния (растворимая форма) к более активному (мембраносвязанная форма) [4]. Такая метаболическая активация энзимных систем может быть принципиально новым механизмом передачи внутриклеточного сигнала с участием NO, что в свою очередь может приводить к развитию каскада неконтролируемых энзимных реакций с вторичным поражением гломерулярного аппарата. Вместе с тем считают, что NO представляет собой вещество, связывающее и инактивирующее супероксиданион с образованием другого, более химически активного цитотоксического соединения – гидроксильного радикала, способного запускать каскады неконтролируемых свободнорадикальных реакций [11].

Донорами NO являются нитроглицерин, нитропруссид натрия, гидроксиламин [2, 33]. При эссенциальной гипертензии без поражения почек, гиперхолестеринемии, нефрогенной гипертензии, довольно эффективным гипотензивным средством считают предшественник NO – аргинин [4], а также донаторы NO – молсидомин (корватон, сиднофарм) [9]. Вместе с тем в эксперименте показана способность эндотелина и ангиотензина 2 – биологических вазоконстрикторов ингибировать системные эффекты NO при артериальной гипертензии [26].

Длительная гиперпродукция NO усиливает проницаемость сосудов и ведет к развитию отека, утолщению интимы сосудов, возникновению прямого кардиотоксического эффекта со стойкой вазодилатацией и гипотонией [5, 8]. Как полагают, прямой нефротоксический эффект NO заключается в способности в больших концентрациях ингибировать тканевое дыхание и этим вызывать развитие ишемических повреждений почечной ткани [12], что в свою очередь ведет к развитию нефросклеротических процессов и ускорению прогрессирования хронической почечной недостаточности при недиабетических гломерулярных заболеваниях почек [34].

В настоящее время длительную гипотонию, устойчивую к действию большинства вазопрессоров, рассматривают как клинический маркер гиперпродукции NO и необходимости адекватной блокады его синтеза [3, 7]. Главными конкурентами NO является L-аргинин и его производные формы, а неконкурентными антагонистами служат антагонисты кальциймодулина (хлорпромазин, калмидазол) [1]. Остается неизученной роль D-аргинина в поддержании антигипертензивных реакций.

Локальное образование большого количества NO в эксперименте воссоздает цитокинзависимые реакции, которые в свою очередь ведут к повреждению клеток и изменяют их антигенные свойства. Участие NO в процессах развития и прогрессирования гломерулонефрита было продемонстрировано в ряде экспериментальных работ. Так, у мышей линии MRL/Mp-lpr/lpr был воспроизведен гломерулонефрит [16]. Изучен уровень i-NOS у здоровых и больных хроническим гломерулонефритом животных. Показано увеличение содержания i-NOS у больных мышей, что косвенно свидетельствует об участии i-NOS в развитии аутоиммунного заболевания. В другой экспериментальной работе оценено влияние NO на состояние клеточной проницаемости эпителиальных клеток опоссума. Установлено, что NO уменьшает клеточную проницаемость эпителия проксимальных канальцев для аденозинтрифосфата. Как считают авторы, данный механизм может играть главенствующую роль в процессах предупреждения ишемического повреждения почечной ткани [20]. Вместе с тем в некоторых других экспериментальных работах представлены данные об отсутствии влияния i-NOS на процессы прогрессирования анти-GBM гломерулонефрита у мышей [12]. В следующей работе показано, что при введении крысам с экспериментальным гломерулонефритом ингибиторов синтеза NO происходит повышение артериального давления, возрастание периферического

кровообращения, снижение сердечного выброса, уменьшение агрегации тромбоцитов [13]. В следующей работе высказывается предположение о возможности применения с лечебной целью при хронических гломерулонефритах ретиноидов – веществ, тормозящих синтез i-NOS в мезангиальных клетках и тем самым замедляющих прогрессирование заболевания [13].

У больных с эссенциальной гипертензией выявлена прямая корреляционная связь между продуцированием NO эндотелием сосудов и повышением диастолического артериального давления, NO и уровнями мочевой кислоты, креатинина сыворотки крови, а также агрегационными свойствами тромбоцитов. Фармакологическая коррекция дефицита NO с помощью донатора синтеза – нитроглицерина способствовала снижению артериального давления и частоты возникновения артериальных и венозных тромбозов [21].

Изучено влияние i-NOS на развитие поражения почек на модели системной красной волчанки у мышей, а также действие аминогуанидина в селективном ингибировании i-NOS и профилактике развития гломерулосклероза у мышей линии NZB/WF1 [18]. Самки мышей получали аминогуанидин в суточной дозе 1 г/л, который давали в виде водного раствора на протяжении 4 месяцев от начала развития экспериментального гломерулонефрита. Контрольную группу составили животные без лечения. На фоне терапии отмечено уменьшение i-NOS, TGF-beta1 на 15,1 % и 61,3 % в сравнении с контрольными животными. Аминогуанидин приводил к уменьшению суточной протеинурии и степени морфологических изменений в почках [32].

В следующем исследовании представлено взаимоотношение синтеза NO и активности энзима. Оно посвящено изучению особенностей синтеза NO и фосфоорилазы A2 в мезангиальных клетках крыс с экспериментальным гломерулонефритом [28]. Индукция экспериментального заболевания вызывала активацию фосфоорилазы A2. При стимуляции интерлейкином-1-бета наблюдали увеличение уровня фосфоорилазы A2 и значительное повышение образования NO. В последующем введение ингибитора NO – монометиларгинина – вызывало дозозависимое ингибирование синтеза фосфоорилазы A2.

Не контролируемое образование i-NOS может вызвать повреждение ткани при иммуновоспалительных заболеваниях – первичных и вторичных гломерулонефритах [5, 22]. При экспериментальном гломерулонефрите показано, что гломерулярная индукция синтеза NO в пораженных нефронах ускоряет их деструкцию и ухудшает

агрегантные свойства тромбоцитов [6]. Наоборот, в неповрежденных (интактных) клубочках NO играет защитную роль. Как считают, за счет уменьшения гломерулярного капиллярного давления происходит торможение прогрессирования заболевания.

Блокада синтеза NO была продемонстрирована на крысах с экспериментальным Неуманн нефритом [30]. На протяжении 12 недель животных поили водой с добавленным ингибитором синтеза NO – нитроаргонином из расчета 10 мг/100 мл воды. Оказалось, что уменьшение продукции NO приводит к понижению степени поражения нефронов.

Как считают, модулятором синтеза NO является гипоксия. Поэтому развитие гипоксии почечной ткани является одним из факторов, потенцирующим его синтез [6, 7]. Изменения уровня NO у людей в большинстве случаев аналогичны результатам экспериментальных работ. При помощи экспресс-метода исследованы биоптаты почек группы здоровых и больных мужчин, страдающих хроническим мезангиальным пролиферативным гломерулонефритом. В гистологических срезах здоровых людей образование NO или отсутствовало, или находилось на весьма низком уровне [27]. При хроническом гломерулонефрите значительно повышался уровень NO в макрофагах, лимфоцитах, а также в эндотелии сосудов и клубочках [27]. Двукратное увеличение его концентрации обнаружено в гладкомышечных клетках сосудистой стенки, мезангиальных клетках и в зонах макрофагально-гистиоцитарных инфильтратов стромы. Низкая концентрация и ускоренный распад NO стимулируют нарушения функции эндотелия, приводят к повышению артериального давления, что авторы работы рассматривают с позиции дальнейшего прогрессирования заболевания. Как считают авторы, для уменьшения влияния дефицита NO на почки целесообразно назначать больным хроническим гломерулонефритом донаторы NO – нитроглицерин, нитропруссид натрия, в особенности в гипертензивной стадии заболевания. Вместе с тем имеются сообщения, свидетельствующие об ингибиторном влиянии NO на пролиферацию и апоптоз макрофагов [23]. В другой работе показано, что содержание i-NOS в биоптатах больных хроническим гломерулонефритом с мочевым синдромом незначительно повышено в сравнении со здоровыми [14], тогда как при гломерулонефрите с нефротическим синдромом развивается гиперпродукция i-NOS.

Ренин-ангиотензиновая система играет немаловажную роль в процессе развития и прогрессирования хронического гломерулонефрита, в особенности при развитии артериальной гипертен-

зии [24]. В немногочисленных работах представлены сведения о применении в лечении ингибиторов ангиотензинконвертирующего энзима, которые потенцируют образование NO, и, как считают, способны замедлять процессы склерозирования почечной паренхимы. В качестве подтверждения результатов предыдущей работы приводим данные эксперимента. У крыс индуцировали развитие гломерулонефрита при помощи анти-Т моноклональных антител. Исследовали содержание NO без лечения и на фоне введения цизаприла. Контроль эффективности лечения осуществляли при помощи измерения кровяного давления, суточной протеинурии, клиренса креатинина и данных морфологического исследования почечной ткани. У крыс без лечения наблюдали статистически достоверное (по сравнению с лечеными) увеличение протеинурии, уменьшение клиренса креатинина и диффузные изменения клубочкового аппарата почек, значительное превышение содержимого TGF- β и всех типов коллагена. Уровень NO у крыс без лечения оказался статистически достоверно более низким, чем в группе леченых животных [24].

Представленные экспериментальные и клинические работы содержат довольно противоречивую информацию об участии NO в патогенезе хронического гломерулонефрита, так как проведение исследований затруднено коротким временем жизни и химической нестабильностью молекулы NO. Проблема количественного определения обострена еще и потому, что в разных концентрациях NO выступает либо как протектор, либо как агрегатор по отношению к почечной ткани.

Как показывает проведенный анализ литературных источников, в настоящее время происходит активный процесс накопления экспериментальных и клинических данных, которые в последующем (хочется надеяться) будут систематизированы. Это позволит в недалеком будущем знать более точные механизмы участия NO в патогенезе гломерулонефритов и при необходимости проводить соответствующую медикаментозную коррекцию.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях // Вестник РАМН.-2000.-№4.-С.3-5.
2. Викторов И.В. Роль оксида азота и других свободных радикалов в ишемической патологии мозга // Вестник РАМН.-2000.-№4.-С.5-11.
3. Драпкина О.М., Задорожная О.О., Ивашкин В.Т. и др. Особенности синтеза оксида азота у больных инфарктом миокарда // Клиническая медицина.- 2000.-№3.-С.19-23.
4. Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б., Реутов В.П. NO-синтазы в норме и при патологии различного генеза // Вестник РАМН.-2000.-№4.-С.30-35.
5. Зозуля О.В., Рогов В.А., Пятакова Н.В., Тареева И.Е. Оксид азота: роль в развитии осложненной беременности и

в их профилактике у женщин с гипертонической болезнью и хроническим гломерулонефритом // *Терапевтический архив.* - 1997. - Т.6, №6. - С.17-20.

6. Майданик В.Г., Малоч А.В. Значения окиси азота в клінічній нефрології // *Актуальні проблеми нефрології: збірник наукових праць.* - Київ. - 1999. - вип. 3. - С.30-43.

7. Манухина Е.Б., Малышев И.Ю., Архипенко Ю.В. Оксид азота в сердечно-сосудистой системе: роль в адаптационной защите // *Вестник РАМН.* - 2000. - №4. - С.16-21.

8. Северина И.С., Бусыгина О.Г., Пятакова Н.В. Активация растворимой гуанилатциклазы новыми донорами NO как основа направленного поиска новых эффективных вазодилаторов и антиагрегантов // *Вестник РАМН.* - 2000. - №4. - С.25-30.

9. Стефанов А.В. Оксид азота в современной фармакологии - от нитроглицерина до виагры // *Лікування та діагностика.* - 1999. - №2-3. - С.8-11.

10. Ткаченко А. В. Роль монооксида азота в процессах жизнедеятельности. - Минск, 1998. - С. 87-90.

11. Тугушева Ф.А. Процессы перекисного окисления липидов и защитная роль антиоксидантной системы в норме и у больных с хроническим гломерулонефритом. Часть 1. *Нефрология.* - 2001. - №1. - С.19-26.

12. Cattell V., Cook H.T., Ebrahim H. et al. Anti-GBM glomerulonephritis in mice lacking nitric oxide synthase type 2 // *Kidney Int.* - 1998. - Vol.53, №4. - P.932-936.

13. Datta P.K., Lianos E.A. Retinoic acids inhibit inducible nitric oxide synthase expression in mesangial cells // *Kidney Int.* - 1999. - Vol.56, №2. - P.486-493.

14. Duan S.B., Liu F.Y., Luo J.A., Peng Y.M. Assessment of urinary endothelin-1 and nitric oxide levels and their relationship with clinical and pathologic types in primary glomerulonephritis // *Yonsei Med. J.* - 1999. - Vol.40. - P.425-429.

15. Hand M.F., Haynes W.G., Webb D.J. Hemodialysis and L-arginine, but not D-arginine, correct renal failure-associated endothelial dysfunction // *Kidney Int.* - 1998. - Vol.53, №4. - P.1068-1077.

16. Hortelano S., Diaz-Guerra M.J., Gonzalez-Garcia A. et al. Linomide administration to mice attenuates the induction of nitric oxide synthase elicited by lipopolysaccharide-activated macrophages and prevents nephritis in MRL/Mp-lpr/lpr mice // *J. Immunol.* - 1997. - Vol. 1. - P.1402-1408.

17. Jerkic M., Varagis J., Jovicic D. et al. L-arginine reduced tubular cell injury in acute post-ischemic renal failure // *Nephrol.Dial.Transplant.* - 1999. - Vol.14, №6. - P.1398-1407.

18. Ketteler M., Distler A. The role of nitric oxide in experimental glomerulonephritis // *Kidney Blood Press. Res.* - 1996. - Vol.19. - P.177-181.

19. Koivisto A., Pittner J., Froelich M., Persson A.E. Oxygen-dependent inhibition of respiration in isolated renal tubules by nitric oxide // *Kidney Int.* - 1999. - Vol.55, №6. - P.2368-2375.

20. Lian M., Knox F.G. Nitric oxide enhances paracellular permeability of opossum kidney // *Kidney Int.* - 1999. - Vol.55, №6. - P.2215-2223.

21. Malyszko J.S., Malyszko J., Pawlak D. et al. Hemostasis, platelet functions, serotonin and serum lipids during omega-3 fatty acid treatment in patients with glomerulonephritis // *Nephron.* - 1998. - Vol.80. - P. 94-96.

22. Morita T., Ito H., Suehiro T. et al. Effect of a polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene in Japanese patients with IgA nephropathy // *Clin. Nephrol.* - 1999. - Vol. 52. - P.203-209.

23. Moeslinger T., Friedl R., Volf I. et al. Urea induces macrophage proliferation by inhibition of inducible nitric oxide synthesis // *Kidney Int.* - 1999. - Vol.56, №2. - P.581-588.

24. Nakamura T., Obata J., Kimura H. et al. Blocking angiotensin II ameliorates proteinuria and glomerular lesions in progressive mesangioproliferative glomerulonephritis // *Kidney Int.* - 1999. - Vol.55. - P.877-889.

25. Peters H., Border W.A., Noble N.A. L-Arginine supplementation increases mesangial cell injury and subsequent tissue fibrosis in experimental glomerulonephritis // *Kidney Intern.* - 1999. - Vol.55, №6. - P.2264-2273.

26. Qiu C., Baylis C. Endothelin and angiotensin mediate most glomerular responses to nitric oxide inhibition // *Kidney Int.* - 1999. - Vol.55, №6. - P.2390-2396.

27. Romagnani P., Pupilli C., Lasagni L. Inducible nitric oxide synthase expression in vascular and glomerular structures of human chronic allograft nephropathy // *Pathol.* - 1999. - Vol. 187. - P.345-350.

28. Rupprecht G., Scholz K., Beck K.F., Geiger H. et al. Cross-talk between group IIA-phospholipase A2 and inducible NO-synthase in rat renal mesangial cells // *Br. J. Pharmacol.* - 1999. - Vol.127. - P.51-56.

29. Tome L.A., Yu L., et al. Beneficial and harmful effects of L-arginine on renal ischemia // *Nephrol.Dial.Transplant.* - 1999. - Vol.14, №5. - P.1139-1145.

30. Uhlenius N., Tikkanen I., Tikkanen T. et al. Chronic inhibition of nitric oxide synthase in Heymann nephritis // *Nephron.* - 1996. - Vol.74. - P.144-149.

31. Vaziri N.D., Liang K., Ding Y. Increased nitric oxide inactivation by reactive oxygen species in lead-induced hypertension // *Kidney Int.* - 1999. - Vol.56, №4. - P.1492-1498.

32. Waddington S., Cook H.T., Reaveley D. et al. L-arginine depletion inhibits glomerular nitric oxide synthesis and exacerbates rat nephrotoxic nephritis // *Kidney Int.* - 1996. - Vol.49. - P.1090-1096.

33. Wangsiripaisan A., Gengaro P.E., Nemenoff R.A. et al. Effect of nitric oxide donors on renal tubular epithelial cell-matrix adhesion // *Kidney Int.* - 1999. - Vol.55, №6. - P.2281-2288.

34. Wang Y., Kikuchi S., Suzuki H. et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism in intron 4 affects the progression of renal failure in non-diabetic renal diseases // *Nephrol.Dial.Transplant.* - 1999. - Vol.14, №12. - P.2898-2902.

Поступила в редакцию 15.07.2002 г.