

НЕФРОЛОГИЯ NEPHROLOGY

ИЗДАТЕЛЬСТВО СПбГМУ
ИЗДАТЕЛЬСТВО «ЛЕВША»
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ • 2007

SAINT PETERSBURG PAVLOV STATE
MEDICAL UNIVERSITY

NORTH-WEST NEPHROLOGY
AND DIALYSIS ASSOCIATION

SPC «NEPHRON»

NEPHROLOGY

SCIENTIFIC PRACTICAL JOURNAL

ESTABLISHED IN NOVEMBER 1996

Editor-in-Chief

A.V.SMIRNOV

Vice Editors

A.M.Essaian, I.G.Kayukov

Editorial Board

S.Kh.Al-Shukri, A.L.Ariev, R.V.Babakhanyan, V.A.Dobronravov,
V.L.Emanuel, V.M.Ermolenko, V.V.Levanovich, N.A.Mukhin,
A.Sh.Rumyantsev, N.D.Savenkova, E.M.Shilov, A.N.Shishkin,
A.M.Shutov, N.N.Smirnova, O.D.Yagmourov, Ya.F.Zverev

Executive Secretary

I.I.Trofimenko

Editorial advisory board

A.Gadaev (Tashkent, Uzbekistan), A.I.Gozhenko (Odessa, Ukraine), K.Ya.Gurevich (St.Petersburg, Russia), E.E.Zvartau (St.Petersburg, Russia), V.Kliem (Hanover-Muenden, Germany), N.A.Kolesnik (Kiev, Ukraine), B.G.Lukichev (St.Petersburg, Russia), A.M.Macleod (Aberdeen, United Kingdom), A.V.Nabokov (Hanover-Muenden, Germany), Yu.V.Natochin (St.Petersburg, Russia), D.N.Paskalev (Varna, Bulgaria), V.Ya.Plotkin (St.Petersburg, Russia), K.M.Sergeeva (St.Petersburg, Russia), V.N.Tkachuk (St.Petersburg, Russia), N.A.Tomilina (Moscow, Russia), D.Tsakiris (Thessaloniki, Greece), N.A.Yaitsky (St.Petersburg, Russia)

Director of enlightening non-commercial
independent organisation «Nephrology»

A.G.KUCHER

Volume 11 • № 3 • 2007

ИЗДАТЕЛЬСТВО СПбГМУ
ИЗДАТЕЛЬСТВО «ЛЕВША»
ST.PETERSBURG • 2007

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ им. акад. И.П.ПАВЛОВА

СЕВЕРО-ЗАПАДНАЯ АССОЦИАЦИЯ
НЕФРОЛОГОВ И ВРАЧЕЙ ДИАЛИЗА

НПО «НЕФРОН»

НЕФРОЛОГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

ОСНОВАН В НОЯБРЕ 1996 года

Главный редактор

А.В.СМИРНОВ

Заместители главного редактора

А.М.Есяян, И.Г.Каюков

Редакционная коллегия

С.Х.Аль-Шукри, А.Л.Арьев, Р.В.Бабаханян,
В.А.Добронравов, В.М.Ермоленко, Я.Ф.Зверев,
В.В.Леванович, Н.А.Мухин, А.Ш.Румянцев, Н.Д.Савенкова,
Н.Н.Смирнова, Е.М.Шилов, А.Н.Шишкин,
А.М.Шутов, В.Л.Эмануэль, О.Д.Ягмуров

Ответственный секретарь

И.И.Трофименко

Редакционный совет

А.Гадаев (Ташкент, Узбекистан), А.И.Гоженко (Одесса,
Украина), К.Я.Гуревич (Санкт-Петербург, Россия), Э.Э.Звартау
(Санкт-Петербург, Россия), Ф.Клим (Ганновер-Мюнден,
Германия), Н.А.Колесник (Киев, Украина), Б.Г.Лукичев (Санкт-
Петербург, Россия), А.М.Маклеод (Абердин, Великобритания),
А.В.Набоков (Ганновер-Мюнден, Германия), Ю.В.Наточин
(Санкт-Петербург, Россия), Д.Н.Паскалев (Варна, Болгария),
В.Я.Плоткин (Санкт-Петербург, Россия), К.М.Сергеева (Санкт-
Петербург, Россия), В.Н.Ткачук (Санкт-Петербург, Россия),
Н.А.Томилина (Москва, Россия), Д.Тзакирис (Фессалоники,
Греция), Н.А.Яицкий (Санкт-Петербург, Россия)

Директор просветительской автономной
некоммерческой организации «Нефрология»

А.Г.КУЧЕР

ИЗДАТЕЛЬСТВО СПбГМУ
ИЗДАТЕЛЬСТВО «ЛЕВША»
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ • 2007

Том 11 • № 3 • 2007

ВНИМАНИЮ ЧИТАТЕЛЕЙ

Дорогие коллеги!

Напоминаем вам, что наш журнал выходит 4 раза в год – в конце каждого квартала. Теперь для вас имеется новая возможность оформления подписки на наш журнал.

С 2006 года вы можете воспользоваться услугами нашего официального представителя – интернет-магазина Setbook.ru, принимающего заказы на подписку и приобретение отдельных номеров журналов нашего издательства.

Оформить заказ можно прямо на сайте <http://www.setbook.ru>, по электронной почте info@setbook.ru (приобретение отдельных номеров), pelena@setbook.ru (подписка), а также по телефонам в Москве: подписка и приобретение отдельных номеров журналов – (495)160-58-56, (495)160-58-48/47, (495)974-02-09/10.

Различные формы оплаты и удобные способы доставки, в т.ч. для Москвы и Санкт-Петербурга – курьерская доставка и самовывоз.

Как и раньше, вы можете оформить подписку на журнал в почтовых отделениях по каталогам «Роспечати».

Подписные индексы прежние:

- для индивидуальных подписчиков: на полугодие; индекс 45860
- для индивидуальных подписчиков: годовая; индекс 47959
- для организаций: индекс 45861

Зав. редакцией О.А.Новикова
Корректор Л.В.Ворченко
Переводчик Л.К.Волынская
Художественное оформление обложки А.И.Приймак
Компьютерная верстка Н.В.Горожий

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охране культурного наследия. Свидетельство ПИ № ФС77-21632 от 22.08.2005. Сдан в набор 25.07.2007. Подписан в печать 04.09.2007. Формат бумаги 60x90^{1/8}. Бумага офсетная. Печать офсетная. Печ. л. 8. Тираж 600 экз.

Адрес редакции: 197089, Санкт-Петербург, ул.Льва Толстого, 17, СПбГМУ им.акад.И.П.Павлова, Нефрокорпус, журнал «Нефрология»
Тел.: (812) 346-39-26; факс: (812) 234-91-91, E-mail: kaukov@pochtamt.ru

Оригинал-макет и печать издательства «Левша. Санкт-Петербург».
197376, Санкт-Петербург, Аптекарский пр., 6,
тел./факс (812) 234-54-36, 234-13-00. E-mail: levsha@levshaprint.ru

© НЕФРОЛОГИЯ, 2007

Никакая часть настоящего издания ни в каких целях не может быть воспроизведена в какой бы то ни было форме и какими бы то ни было средствами, будь то электронные или механические, включая фотокопирование и запись на магнитный носитель, если на то нет письменного разрешения редакции. Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции. Редакция не несет ответственности за рекомендации по диагностике и лечению, данные авторами.

ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ

ДОБРОНРАВОВ В.А., БЫСТРОВА Н.Н., ДРОЗДОВА Ю.В.
Оценка дисфункции почек у больных сахарным
диабетом

ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

ЕРМОЛЕНКО В.М., МИХАЙЛОВА Н.А., БАТЭРДЭНЭ С.
Физиология и патофизиология транспорта фосфата

КУЗЬМИН О.Б., ПУГАЕВА М.О.
Кардиопротективная терапия больных с хронической
болезнью почек

ТУГУШЕВА Ф.А., ЗУБИНА И.М., МИТРОФАНОВА О.В.
Оксидативный стресс и хроническая болезнь почек

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ**Клинические исследования**

КАРАБАЕВА А.Ж., ЕСАЯН А.М., КАЮКОВ И.Г.
Ассоциация полиморфизма гена альдостеронсинтазы
с концентрацией альдостерона плазмы, артериальной
гипертензией и ремоделированием миокарда
у больных на программном гемодиализе

МАЦИОНИС А.Э., БАТЮШИН М.М., ПОВИЛАЙТИТЕ П.Е.,
ЛИТВИНОВ А.С.
Морфологический анализ патологических изменений
в почках в зависимости от длительности артериальной
гипертензии

ВОЛКОВ М.М., ДЕГТЕРЕВА О.А., ШЕВЯКОВА Е.В.
Факторы, связанные с кальцинацией клапанного
аппарата сердца у пациентов на хроническом
гемодиализе

ИГНАТЕНКО Г.А., МУХИН И.В., ТУМАНОВА С.В.
Антигипертензивная эффективность интервальной
нормобарической гипокситерапии у больных
хроническим гломерулонефритом и стенокардией

Экспериментальные исследования

БЕРЕСНЕВА О.Н., ПАРАСТАЕВА М.М., ИВАНОВА Г.Т.,
ЗУБИНА И.М., КУЧЕР А.Г., КАЮКОВ И.Г.
Оценка кардиопротективного действия малобелковой
соевой диеты и уровень неорганических анионов
сыворотки крови у спонтанно-гипертензивных крыс
с нефрэктомией

ЮЛДАШЕВ А.Ю., РАХМАНОВ Р.Р., ЮЛДАШЕВ А.А.,
ТАРИНОВА М.В.
Гистофизиология сосудистых клубочков и
юктагломерулярного аппарата почек после белковой
нагрузки и голодания

ГОЖЕНКО А.И., ТРУСОВА М.В.
Влияние глутаргина и аргинина на течение
индуцированной ифосфамидом экспериментальной
почечной недостаточности у белых крыс

LEADING ARTICLE

7 DOBRONRAVOV V.A., BYSTROVA N.N., DROZDOVA Yu.V.
Assessment of kidney dysfunction in diabetes mellitus
patients

REVIEWS AND LECTURES

12 ERMOLENKO V.M., MIKHAILOVA N.A., BATERDENE S.
The physiology and pathophysiology of phosphate
transport

21 KUZMIN O.B., PUGAEVA M.O.
Cardioprotective therapy of patients with chronic kidney
disease

29 TUGUSHEVA F.A., ZUBINA I.M., MITROFANOVA O.V.
Oxidative stress and chronic kidney disease

ORIGINAL ARTICLES**Clinical investigations**

48 KARABAEVA A.Zh., ESSAIAN A.M., KAYUKOV I.G.
Association of aldosterone synthase gene polymorphism
with concentration of plasma aldosterone, arterial
hypertension and myocardium remodeling in program
dialysis patients

53 MATSIONIS A.E., BATYUSHIN M.M., POVILAJTITE P.E.,
LITVINOV A.S.
Morphological analysis of pathological alterations
in the kidneys depending on duration of arterial
hypertension

57 VOLKOV M.M., DEGTEREVA O.A., SHEVYAKOVA E.V.
Factors associated with heart valve calcification in
patients on chronic hemodialysis

64 IGNATENKO G.A., MUKHIN I.V., TUMANOVA S.V.
Antihypertensive effectiveness of interval normobaric
hypoxotherapy in patients with chronic
glomerulonephritis and angina pectoris

Experimental investigations

70 BERESNEVA O.N., PARASTAEVA M.M., IVANOVA G.T.,
ZUBINA I.M., KUCHER A.G., KAYUKOV I.G.
Assessment of cardioprotective effects of low-protein
soy diet and level of nonorganic anions of blood serum
in spontaneously hypertensive rats

77 YULDASHEV A.Yu., RAKHMANOV R.R., YULDASHEV A.A.,
TARINOVA M.V.
Histophysiology of vascular glomerules and
juxtaglomerular apparatus of kidneys after protein load
and starvation

82 GOZHENKO A.I., TRUSOVA M.V.
Effects of glutargine and arginine on the course of
ifosfamide induced experimental renal failure
in white rats

ЖУРНАЛ В ЖУРНАЛЕ
Актуальные проблемы урологии

АЛЬ-ШУКРИ С.Х., ЧАЛИСОВА Н.И., ЗАКУЦКИЙ А.Н.,
БОРОВЕЦ С.Ю., АНИСКИНА А.И.
Влияние аминокислот и их метаболитов на развитие
органотипической культуры ткани
семенников у крыс

ПРОГРАММА НЕПРЕРЫВНОГО
ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ПО НЕФРОЛОГИИ

КАЮКОВ И.Г., СМIRНОВ А.В., ДОБРОНРАВОВ В.А.
Рентгеноконтрастная нефропатия

JOURNAL IN THE JOURNAL
Actual problems of urology

86 AL-SHUKRI A.Kh., CHALISOVA N.I., ZAKUTSKY A.N.,
BOROVETS S.Yu., ANISKINA A.I.
Effects of amino acids and their metabolites
on the development of organotypical tissue culture
of testes in rats

PROGRAMME OF CONTINUOUS
POSTGRADUATE EDUCATION ON
NEPHROLOGY

93 KAYUKOV I.G., SMIRNOVA V., DOBRONRAVOV V.A.
Radiocontrast nephropathy

© В.А.Добронравов, Н.Н.Быстрова, Ю.В.Дроздова, 2007
УДК 616.379-008.64:616.61

В.А. Добронравов, Н.Н. Быстрова, Ю.В. Дроздова

ОЦЕНКА ДИСФУНКЦИИ ПОЧЕК У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

V.A. Dobronravov, N.N. Bystrova, Yu.V. Drozdova

ASSESSMENT OF KIDNEY DYSFUNCTION IN DIABETES MELLITUS PATIENTS

Научно-исследовательский институт нефрологии, кафедра пропедевтики внутренних болезней Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая нефропатия, хроническая болезнь почек.

Key words: diabetes mellitus, diabetic nephropathy, chronic kidney disease.

Диабетическая нефропатия (ДН) – одно из центральных осложнений сахарного диабета (СД), связанное со снижением выживаемости этой категории больных. Традиционно считают, что наиболее ранняя клиническая диагностика ДН возможна только в так называемой микроальбуминурической стадии болезни, когда при ещё нормальных рутинных анализах мочи выявляется повышение мочевого экскреции альбумина. Появление явной протеинурии ассоциируется с развитием тяжелых морфологических изменений почек – типичных проявлений диабетического гломерулосклероза в виде утолщения гломерулярной базальной мембраны, увеличения объема основного вещества, диффузного или узелкового мезангиального склероза, артериологипертонии [1].

Естественное течение ДН традиционно делят на 5 стадий, в соответствии с классификацией, предложенной С.Е. Mogensen в начале 80-х годов прошлого века [2,3], которую до настоящего времени широко используют в диабетологии. При определении стадийности ДН (и, по сути, ее тяжести) основную роль отводят условным градациям величины мочевого экскреции альбумина/белка – нормоальбуминурии (НАУ), микроальбуминурии (МАУ) и явной протеинурии/макроальбуминурии (МА). Значения же СКФ в практических приложениях классификации явно не учитываются, за исключением 1-й стадии, для которой считается характерным повышение СКФ, и 5-й – при развитии азотемии.

Вместе с тем, тяжесть течения любой хронической нефропатии, так же как и определение прогноза, должно базироваться на одновременной оценке двух принципиально важных клинических показателей – экскреции альбумина/белка с мочой и

СКФ. С морфо-функциональных позиций такой подход к анализу ренальной дисфункции также полностью оправдан, поскольку каждый из этих параметров связан с различными сторонами ее развития и прогрессирования. К появлению патологической альбуминурии, в первую очередь, нарушение проницаемости гломерулярного фильтра, а также изменение функции проксимальных канальцев. Стойкое же снижение СКФ, с патофизиологической точки зрения, указывает на уменьшение числа функционирующих нефронов. Следует также отметить, что СКФ не только показатель, характеризующий процессы образования гломерулярного ультрафильтрата. Его снижение отчетливо сопряжено с развитием и прогрессированием нарушений других экскреторных и неэкскреторных функций почки, имеющих системное значение.

Риск смерти от сердечно-сосудистых событий у больных СД в 2 раза выше, чем вероятность прогрессирования нефропатии и развития терминальной почечной недостаточности [4]. Поэтому с точки зрения превентивной нефрологии и кардиологии [5,6] оба обсуждаемых показателя также крайне важны, как независимые предикторы развития и прогрессирования сердечно-сосудистой патологии и связанной с ней выживаемости [7–10].

С 2002 года в клиническую практику прочно вошло понятие «хронической болезни почек» (ХБП), которое определяется как повреждение почек продолжительностью 3 месяца и более, и проявляется в виде структурных или функциональных нарушений деятельности органа со снижением или без снижения СКФ, либо снижением СКФ менее 60 мл/мин/1,73м² в течение 3 месяцев и более вне зависимости от наличия или отсутствия других признаков повреждения почек [11].

Распространенность снижения СКФ в зависимости от уровня мочевого экскреции белка у больных СД типа 1

Диапазон СКФ, мл/мин (Стадия ХБП)	Нормоальбуминурия (n=256)	Микроальбуминурия (n=76)	Макроальбуминурия/явная протеинурия (n=141)
≥90 (1)	22,9	34,4	8,8
60-89 (2)	68,8	49,2	28,3
30-59 (3)	7,3	13,1	37,2
15-29 (4)	1	3,2	10,6
<15 (5)	0	0	15,0

Распространенность снижения СКФ в зависимости от уровня мочевого экскреции белка у больных СД типа 2

Диапазон СКФ, мл/мин (Стадия ХБП)	Нормоальбуминурия (n=127)	Микроальбуминурия (n=67)	Макроальбуминурия/явная протеинурия (n=184)
≥90 (1)	11,1	7,7	4,9
60-89 (2)	48,5	53,8	23,6
30-59 (3)	37,4	38,5	43,1
15-29 (4)	3,0	0	17,4
<15 (5)	0	0	11,1

Классификация ХБП и оценка ее тяжести ХБП (стадии) осуществляется по величине снижения уровня СКФ – параметра наиболее полно и просто (в виде одного конкретного числового значения) отражающего глобальную функцию почек. Ее применение не только вполне рационально у больных, страдающих СД, но и, как показывает ряд имеющихся к настоящему времени данных, позволяет в значительной степени пересмотреть подходы к анализу дисфункции почек в этой специфической популяции.

Ниже приведены результаты нашего исследования, в котором определяли распространённость дисфункции почек у больных СД на основе определения не только экскреции альбумина с мочой, но и анализа значений СКФ. В ретроспективное сплошное наблюдательное исследование были изначально включены 1039 пациентов с СД типов 1 и 2, обратившихся в НИИ нефрологии и клинику пропедевтики внутренних болезней СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова в период с 2002 по 2006 гг. В дальнейшем из разработки были исключены 188 человек, переносившие любую острую патологию (в основном, сердечно-сосудистую, инфекционную), оперативные вмешательства, получающие заместительную почечную терапию, со злокачественными новообразованиями, а также врожденными или аутоиммунными болезнями почек, определенно подтвержденными при клиническом или прижизненном морфологическом исследовании. Таким образом, для анализа был отобран 851 пациент: 473 случая СД типа 1 и 378 – СД типа 2. В каждом случае была определена расчетная СКФ по уравнению MDRD 7 [12] и суточная экскреция

белка с мочой (СПБ). При значении СПБ менее 500 мг/сутки у каждого больного определяли соотношение альбумин/креатинин в утренней порции мочи (ACR), как показатель, с высокой чувствительностью и специфичностью отражающий и суточную экскрецию альбумина с мочой [13]. Концентрацию альбумина мочи определяли иммунохимическим методом с применением моноклональных антител. Случаи с ACR менее 30 мг/г считали нормоальбуминурией (НАУ), 30-299 мг/г – микроальбуминурией (МАУ). ACR≥300 мг/г или уровень СПБ, равный или превышающий 500 мг/сутки, считали явной протеинурией по классификации С.Е. Mogensen [2, 3].

Распространенность снижения СКФ у больных СД типа 1. Из 473 больных СД тип 1 нормоальбуминурию выявили в 256 случаях, МАУ – в 76, явную протеинурию – в 141. Менее одной четверти нормоальбуминурических больных имели нормальные значения СКФ (>90 мл/мин), а та или иная степень снижения СКФ выявлена у 77% (табл.1). У большинства пациентов с НАУ снижение СКФ было начальным (СКФ в диапазоне 60-89 мл/мин), а у 8,3% обнаружено выраженное снижение СКФ, соответствующее III-IV стадиям ХБП. Чуть более трети больных с МАУ имели нормальные значения СКФ, а начальное ее снижение – почти половина. При этом, выраженная дисфункция почек (III-IV стадии ХБП) обнаружена в 16,4% случаев. Среди больных СД тип 1 с явной протеинурией доля больных с выраженным снижением СКФ была закономерно больше и в целом составляла 62,8% (см. табл.1).

Распространенность снижения СКФ у больных СД типа 2. У пациентов с СД тип 2 и НАУ выявлена в 127 случаях, МАУ – в 67, а явная протеинурия – в 184. Снижение СКФ <60 мл/мин, соответствующее ХБП III стадии, обнаружено более чем у 40% нормоальбуминурических больных и примерно у такой же доли пациентов, имевших МАУ (табл. 2). При наличии явной протеинурии только в единич-

ных случаях наблюдали нормальные значения СКФ, а у большинства таких больных снижение СКФ соответствовало III–V степени ХБП (см. табл.2).

Приведенные данные определенно указывают на то, что в пределах одного и того же диапазона мочевого экскреции альбумина – НАУ, МАУ или явной протеинурии – выраженность дисфункции у больных СД почек может варьировать в весьма широких пределах (от нормальной функции до почечной недостаточности). Кроме того, значительной пропорции больных (7,3% при СД типа 1 и 37,4% при СД типа 2) выраженное снижение СКФ (<60 мл/мин) может наблюдаться при нормальной экскреции альбумина с мочой. Последнее чрезвычайно важно, поскольку больные с СД и НАУ при использовании классификации С.Е. Mogensen, не могут быть клинически разграничены как имеющие или не имеющие начальные признаки диабетической нефропатии. Это разграничение возможно только при проведении биопсии почки с последующим морфологическим исследованием – трудоемкой, далеко не всегда доступной и оправданной в отсутствие существенной альбуминурии процедуры. На практике в своем большинстве такие пациенты с СД не имеют диагноза почечной дисфункции и им не проводят соответствующей терапии. Таким образом, оценка СКФ у больных СД с НАУ позволяет дополнительно выявлять существенную долю больных с явным нарушением функционального состояния почек и планировать для них проведение мероприятий по рено- и кардиопротекции.

Доля лиц с низкими значениями СКФ (<60 мл/мин) у больных с СД типа 1 и отсутствием явной протеинурии (НАУ/МАУ) суммарно составляет почти 24%. Эти данные находятся в значительном противоречии с распространенными представлениями о сохранности СКФ у нормо- и микроальбуминурических пациентов, и ее снижении только при переходе от МАУ к явной протеинурии [14]. Вместе с тем, снижение СКФ в отсутствие явной протеинурии определенно является неблагоприятным прогностическим фактором в отношении более быстрого развития почечной недостаточности, сердечно-сосудистых осложнений и требует проведения соответствующих лечебных мероприятий.

Появление и персистенция МАУ у инсулинзависимых пациентов, как правило, соответствует развитию типичной морфологической картины начального диабетического гломерулосклероза с увеличением объема мезангиального матрикса и сокращением фильтрационной поверхности капилляров клубочка, что определенно может быть субстратом для снижения СКФ. При этом остает-

ся не вполне ясным, какова причина снижения процессов гломерулярной фильтрации СКФ в отсутствие МАУ или явной протеинурии. Определенный свет на эту проблему проливают данные ультраструктурных исследований. В них было показано, что более низкие значения СКФ у больных СД тип 1 и НАУ связаны с более выраженными изменениями клубочка в виде утолщения гломерулярной базальной мембраны и увеличения фракционного объема мезангия [15], в дальнейшем являющихся основой формирования типичной морфологической картины гломерулосклероза.

В отличие от СД типа 1, среди больных с СД типа 2 с НАУ или МАУ значительно чаще встречаются случаи с выраженным снижением СКФ <60 мл/мин. Суммарно их доля составляет более одной трети (см. табл. 2). Представленные результаты, в значительной мере, согласуются с данными других исследований, в которых снижение СКФ находили в 30–48,8% нормоальбуминурических случаев [16, 17]. Большая распространенность изолированного снижения СКФ при СД типа 2, вероятно, определяется сочетанным влиянием на почки гипергликемии *per se* и системных сосудистых процессов – артериальной гипертензии, атеросклероза, дисфункции эндотелия, а также возрастных изменений, которые у половины инсулиннезависимых больных предшествуют выявлению гипергликемии. Данное предположение подтверждается и выраженной гетерогенностью морфологических изменений в почечной ткани при СД тип 2 [18].

Можно было бы предположить, что развитие диабетического гломерулосклероза при СД тип 1 протекает по нескольким сценариям. Развитие МАУ с сохранной СКФ может указывать на преимущественные нарушения проницаемости гломерулярного фильтра, в частности, вследствие раннего формирования внутриклубочковой гипертензии, генетической предрасположенности, дисфункции эндотелия. Изолированное же снижение СКФ в отсутствие увеличения мочевого экскреции альбумина может быть связано с доминированием увеличения синтеза основного вещества в структурах клубочка и приносящих сосудов при относительно невыраженных процессах гломерулярной гипертензии/гиперфильтрации (или ее отсутствии) и относительной сохранности проницаемости базальной мембраны. Очевидно, эти процессы могут протекать параллельно, что клинически будет проявляться наличием МАУ в сочетании с явным снижением СКФ. Дальнейшее накопление клинических и морфологических данных позволит уточнить прогностическую значимость различных сочетаний функциональных изменений в виде аль-

буминурии и СКФ, а возможно, и определить наиболее эффективные терапевтические стратегии.

Важно отметить и то, что именно расчетная СКФ должна быть использована для диагностики ХБП по международным рекомендациям, а не более привычная многим практическим врачам концентрация сывороточного креатинина (Scr) [11], что связано с нелинейным характером зависимости Scr от уровня СКФ. При высоких значениях СКФ даже значительные колебания этого параметра должны вызывать сравнительно небольшие изменения Scr. На практике это проявляется, в частности, тем, что значения Scr, соответствующие границам нормы, могут ассоциироваться со снижением СКФ более, чем на 50% [19]. Таким образом, попытки определить функциональное состояние почек только на основе креатининемии без данных о СКФ приводят к явной недооценке выраженности ренальной дисфункции, в том числе и у больных СД [20,21]. Собственные данные авторов настоящего сообщения указывают на то, что в анализируемой популяции больных СД типа 1 с нормальной концентрацией Scr (<120 мкмоль/л), снижение СКФ <60 мл/мин наблюдается в 7,6% случаев, а у пациентов с СД типа 2 – в 33%. Предпочтительность определения СКФ перед концентрацией креатинина сыворотки крови отражена и в недавно опубликованных рекомендациях Американской Ассоциации Диабета [22].

«Золотым стандартом» измерения СКФ, по-прежнему, остаются трудоемкие клиренсовые методики, связанные с введением экзогенных гломерулотропных маркеров. Вместе с тем, для рутинной клинической практики могут (и должны) быть использованы весьма простые способы расчета клиренса креатинина или СКФ, позволяющие обходиться только измерениями сывороточных показателей без сбора суточной мочи. Обоснованным считается применение формул D.W. Cockcroft и M.H. Gault [23] или MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) [12]. Последняя позволяет оценивать величину СКФ исходя из концентраций креатинина, мочевины и альбумина в сыворотке крови, возраста, пола и расы пациента. Предложен и упрощенный вариант уравнения MDRD, который требует знания только концентрации сывороточного креатинина, возраста, пола и расы больного [24]. В целом, применение формулы MDRD у больных СД считается предпочтительным, в сравнении с формулой Cockcroft-Gault [25].

В целом, следует отметить, что распространенность дисфункции почек, определяемой по СКФ в популяции больных СД достаточно высока, в том числе и среди пациентов с нормо- и микроальбу-

минурией. Эти данные бесспорно указывают на необходимость широкого внедрения оценки СКФ и стадии ХБП для проведения скрининга, динамического наблюдения и классификации тяжести поражения почек при СД, наряду с определением уровня альбуминурии/протеинурии. С теоретической точки зрения, дальнейший анализ факторов риска, патологических механизмов и прогностического значения снижения СКФ, ассоциированного с нормо-, микро- и макроальбуминурией, может позволить дифференцировать разные варианты развития и прогрессирования дисфункции почек у больных СД, а, следовательно, более точно определять подходы к ее лечению.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Osterby R. Glomerular structural changes in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: causes, consequences, and prevention. *Diabetologia* 1992; 35 (9): 803-812
- Mogensen CE, Christensen C, Vittinghus E. The stages in diabetic renal disease with emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes* 1983; 32: 64-78
- Mogensen CE, Schmitz O. The diabetic kidney: from hyperfiltration and microalbuminuria to end-stage renal failure. *Med Clin North America* 1988; 72: 1465-1492
- Adler AI, Stevens RJ, Manley SE et al. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney Int* 2003; 63: 225-232
- Смирнов АВ, Каюков ИГ, Есаян АМ и др. Превентивный подход в современной нефрологии. *Нефрология* 2004; 8(3): 7-14
- Смирнов АВ, Добронравов ВА, Каюков ИГ. Кардиоренальный континуум: патогенетические основы превентивной нефрологии. *Нефрология* 2005;9(3): 7-15
- Majunath G, Tighionart H, Ibrahim H et al. Level of kidney function as risk factors for atherosclerotic cardiovascular outcomes in the community. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 47-55
- Henry RM, Kostense PJ, Bos G et al. Mild renal insufficiency is associated with increased cardiovascular mortality: the Hoorn Study. *Kidney Int* 2002; 62: 1402-1407
- Nitsch D, Dietrich DF, von Eckardstein A et al. Prevalence of renal impairment and its association with cardiovascular risk factors in a general population: results of the Swiss SAPALDIA study. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(4): 935-944
- Segura J, Campo C, Ruilope LM. Effect of proteinuria and glomerular filtration rate on cardiovascular risk in essential hypertension. *Kidney Int Suppl* 2004; 92:45-49
- National Kidney Foundation KD: Clinical practice guidelines for chronic Kidney disease: Evaluation, classification and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002;39 [suppl 1]: S1-S266
- Levey AS, Bosch JP, Lewis JB et al. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction indication. Modification of diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999; 130(6): 461-470
- http://www.kidney.org/professionals/KDOQI/guidelines_ckd/p5_lab_g5.htm
- Mogensen CE. Reduced glomerular filtration rate and cardiovascular damage in diabetes: A key role for abnormal albuminuria. *Acta Diabetol* 1992; 29: 201-213
- Caramori ML, Fioretto P, Mauer M. Low glomerular filtration rate in normoalbuminuric type 1 diabetic patients: an indicator of more advanced glomerular lesions. *Diabetes* 2003; 52(4): 1036-1040
- Kramer HJ, Nguyen QD, Curhan G, Hsu C. Renal insufficiency in the absence of albuminuria and retinopathy

among adults with type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2003; 289: 3273-3277

17. Middleton RJ, Foley RN, Hegarty J et al. The unrecognized prevalence of chronic kidney disease in diabetes. *Nephrol Dial Transplant* 2006 Jan; 21(1):88-92

18. Gambaro V, Mecca G, Remuzzi G, Bertani T. Heterogeneous nature of renal lesions in type II diabetes. *J Am Soc Nephrol* 1993; 3: 1458-1466

19. Walser M. Assessing renal function from creatinine measurements in adults with chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 1998; 32(1): 23-31

20. Kong APS, So WY, Szeto CC et al. Assessment of glomerular filtration rate in addition to albuminuria is important in managing type II diabetes. *Kidney Int* 2006; 69(2): 383-387

21. Middleton RJ, Foley RN, Hegarty J et al. The unrecognized prevalence of chronic kidney disease in diabetes.

Nephrol Dial Transplant 2006; 21(1):88-92

22. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27 [suppl 1]: S15-S21

23. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16(1): 31-41

24. Levey AS, Greene T, Kusek JW, Beck GJ. MDRD Study Group. A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinine [Abstract]. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: A0828

25. Rigalleau V, Lasseur C, Perlemoine C et al. Estimation of glomerular filtration rate in diabetic subjects Cockcroft formula or Modification of Diet in Renal Disease study equation? *Diabetes Care* 2005; 28: 838-843

Поступила в редакцию 25.05.2007 г.

Принята в печать 22.06.2007 г.

© В.М.Ермоленко, Н.А.Михайлова, С.Батэрдэнэ, 2007
УДК 546.89

В.М. Ермоленко, Н.А. Михайлова, С. Батэрдэнэ

ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ ТРАНСПОРТА ФОСФАТА

V.M. Ermolenko, N.A. Mikhajlova, S. Baterdene

THE PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY OF PHOSPHATE TRANSPORT

Кафедра нефрологии Российской медицинской академии последипломного образования, Москва, Россия

Ключевые слова: неорганический фосфор, почки, гипофосфатемия, гиперфосфатемия.

Key words: nonorganic phosphorus, kidneys, hypophosphatemia, hyperphosphatemia.

Фосфор (P) – химический элемент V группы Периодической системы Менделеева с атомной массой 30,97, неметалл, в природе участвует в магматических процессах и энергично мигрирует в биосфере. С обоими процессами связаны его крупные накопления, образующие промышленные месторождения апатитов и фосфоритов. Известны около 180 минералов фосфора, из которых наиболее распространены фосфаты кальция.

Способ получения фосфора был известен ещё в XII веке арабским алхимикам, но общепризнанной датой открытия фосфора считается 1669 г., когда Henning Brandt, выпаривая ферментированную мочу до состояния густого сиропа с последующей перегонкой без доступа воздуха, получил светящееся в темноте вещество, названное фосфором (от греческого *phospheros*-светоносный). Этот момент запечатлен на полотне известного английского живописца Joseph Wright «Алхимик» (1771 г.), жившего в XVIII веке (рис. 1).

В организме млекопитающих и человека основным депо фосфата является скелет (85%), а в клетках органов фосфат (14%) присутствует в виде орто- и пирофосфорной кислот, входит в состав нуклеотидов, коферментов и других органических соединений. Внеклеточная жидкость содержит всего 1% неорганического фосфора (Pi).

Благодаря особенностям химического строения атомы фосфора, подобно атомам серы, способны к образованию макроэргических соединений – АТФ и креатинфосфата, обеспечивающих энергией различные процессы от сокращения мышц до транспорта ионов в почечных канальцах. Именно соединения фосфора в процессе биологической эволюции стали основными универсальными хранителями генетической информации, переносчиками энергии во всех живых системах, а фосфорилирование и дефосфорилирование белков и фермен-

тов является ключевым звеном внутриклеточного сигнала.

С пищей здоровый человек потребляет 1,5–2,0 г фосфора в сутки. Из этого количества 1,0–1,2 г абсорбируется в тонком кишечнике посредством пассивного ненасыщаемого механизма, а при дефиците фосфата дополнительная активная абсорбция фосфата осуществляется трансцеллюлярно с участием Na/Pi IIb-котранспортера, активность которого на транскрипционном уровне регули-



Рис. 1. Алхимик в поиске философского камня обнаруживает фосфор. Joseph Wright Derby (1734-97).

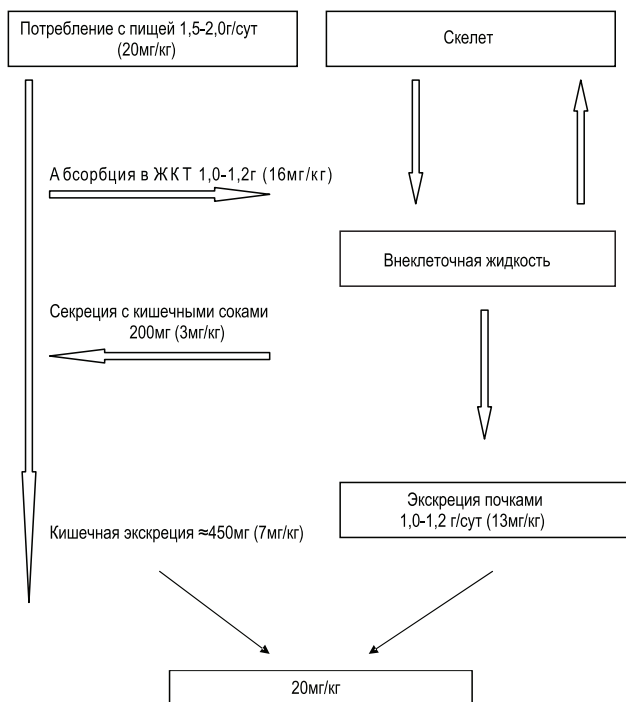


Рис. 2. Баланс фосфора.

руется $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [1]. Приблизительно 200 мг фосфата секретируется в просвет кишечника с пищеварительными соками. Таким образом, в кишечнике ежесуточно абсорбируется 1,0 г фосфата (13мг/кг), поступающего в последующем во внеклеточную жидкость, а неабсорбированный фосфат элиминируется через кишечник. Из внеклеточной жидкости 200 мг фосфора ежесуточно обменивается с фосфатом скелета, а 1,0 г фосфата (13мг/кг) экскретируется почками, обеспечивающими поддержание нейтрального баланса фосфора и его постоянный уровень в крови (рис. 2).

В крови органический фосфор (70% циркулирующего количества) сосредоточен в эритроцитах, а в плазме P_i представлен моновалентной (H_2PO_4^-) и дивалентной формой (HPO_4^{2-}). При нормальных значениях pH 80% неорганического фосфата является дивалентным. Последнее объясняется, как показали исследования на изолированных пузырьках щеточной каемки, конкуренцией за места связывания на транспортере между H и Na ионами [2, 3].

Почки ежесуточно фильтруют около 9000 мг P_i , 90% из которого реабсорбируется преимущественно в проксимальных канальцах. В эксперименте в условиях искусственного дефицита реабсорбция фосфата быстро возрастает, а экскреция снижается до минимальных значений.

В проксимальных канальцах идентифицировано и в последующем клонировано 3 транспортера неорганического фосфата, участвующих в реабсорбции: P_i I, II и III типа. Транспортёры I и II типа

локализованы на апикальной мембране канальцевого эпителия и III типа – на базолатеральной мембране. Реабсорбция P_i сопряжена с транспортом Na.

Na/P_i -I типа состоит из 465 аминокислотных остатков, обладает активностью CL-канала, помимо фосфора реабсорбирует органические анионы, обнаружен также в печени и мозге.

Na/P_i транспортер II типа подразделяется в свою очередь на 3 подтипа: электрогенные IIa и IIb и электронейтральный IIc. Все они, как и Na/P_i III типа, содержат больше аминокислотных остатков (от 601 до 690) и кроме IIb экспрессированы в проксимальных канальцах, а IIb – в кишечнике и легких. Na/P_i транспортер III типа осуществляет транспорт P_i из клеток во всех тканях [4, 5].

У мышей с целевым отсутствием Na/P_i IIa в пузырьках щеточной каемки проксимальных канальцев реабсорбция фосфата снижается на 70% [6], свидетельствуя о ключевой роли Na/P_i IIa в реабсорбции P_i в почках. Приблизительно в 30% реабсорбция фосфата осуществляется Na/P_i сопереносчиком IIc типа, активность которого велика у молодых животных, а у взрослых повышается при низком содержании P_i в рационе [7,8].

Объем реабсорбции P_i определяется числом молекул Na/P_i на апикальной мембране эпителия проксимальных канальцев. Острый дефицит фосфата в рационе сопровождается увеличением числа Na/P_i в щеточной каемке, рекрутируемых из внутриклеточного пула [9], в то время как хронический дефицит потребления P_i повышает реабсорбцию за счет транскрипционного образования новых молекул котранспортера [10,11].

Паратгормон (ПТГ) снижает реабсорбцию P_i , уменьшая число Na/P_i транспортных единиц на апикальной мембране, которые подвергаются лизосомальной деградации [1, 4, 12–18]. Проведенные на культуре эпителиальных канальцевых клеток опосредованная исследования показали, что ПТГ снижает канальцевую реабсорбцию фосфата через цАМФ и Ca-зависимым механизмом [19]. Связывание ПТГ с рецептором на поверхности клетки вызывает высвобождение гуанозиндифосфата (ГДФ) из Gs белка, позволяя ему реагировать с гуанозинтрифосфатом (ГТФ). Комплекс ГТФ-Gs стимулирует мембрано-связанную аденилатциклазу, генерирующую образование цАМФ, который ингибирует Na/H противотранспорт и активность Na/P_i транспортера [20]. Взаимодействие с рецептором осуществляют 34 из 84 аминокислотных остатков, из которых состоит ПТГ, в то время как белкам, родственным ПТГ (PTHrP), повторяющим многие эффекты ПТГ и ответственным за паранеопластическую гиперкальциемию, для взаимодействия с рецепто-

ром достаточно всего 13 аминокислотных остатков [21].

Все агенты, способные стимулировать активность аденилатциклазы, ингибируют Na/Pi котранспорт. Аналогичный эффект на транспорт фосфата оказывает и протеинкиназа C, которая активируется внутриклеточными диацилглицеролом и инозитолтрифосфатом [22]. Одновременно ПТГ активирует кальциевые каналы, вызывая повышение концентрации внутриклеточного кальция. В конечном итоге, ПТГ воздействует на Na/Pi через митоген-активируемую протеинкиназу A (PKA), и регулирующую внеклеточный сигнал – киназу (ERK) [23,24].

Помимо прямого влияния на транспорт фосфата в проксимальных канальцах ПТГ косвенно повышает всасывание Pi, стимулируя синтез $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (кальцитриола). Последний усиливает абсорбцию фосфата в тонком кишечнике и его реабсорбцию в почках [25–33].

Высокое содержание Pi во внеклеточной жидкости ингибирует активность $1\alpha\text{OHD}_3$ -гидроксилазы фермента, конвертирующего 25OHD_3 в $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [34–37], в то время низкий уровень фосфата оказывает противоположный эффект. Влияние внеклеточного фосфата на активность фермента не зависят от ПТГ и Na/Pi [38].

ПТГ и кальцитриол регулируют фосфорно-кальциевый гомеостаз в организме. Вместе с тем, при некоторых описанных еще в первой половине прошлого века заболеваниях, в основном наследственного генеза, ведущим симптомом является гипофосфатемия, индуцирующая нарушения минерализации скелета, в то время как содержание в сыворотке больных кальция и ПТГ остается нормальным. К таким заболеваниям, объединяемых общим патогенезом, принадлежат связанный с X хромосомой гипофосфатемический рахит (X-linked hypophosphatemic rickets, XLN), аутосомно-доминантный гипофосфатемический рахит (autosomal dominant hypophosphatemic rickets, ADHR) и остеомаляция, индуцированная опухолью (tumor induced osteomalacia, ТИО), проявляющаяся нарушением метаболизма фосфата, обусловленным развитием у больных чаще всего доброкачественной мезенхимальной опухоли. Именно всестороннее изучение патогенеза ТИО позволило обнаружить ряд веществ, названных *фосфатонинами*, избирательно влияющих на реабсорбцию фосфата в проксимальных канальцах, важнейшим из которых является фактор роста фибробластов 23 (fibroblast growth factor 23, FGF-23).

В основе первых двух страданий лежит мутация гена FGF-23, в третьем случае речь идет об

избыточной продукции FGF-23 клетками опухоли.

FGF-23 сравнительно недавно идентифицированный представитель семейства FGF, вовлеченный в регуляцию метаболизма фосфата и скелетогенез [39]. Структура FGF-23 в высокой степени гомологична другим членам FGF семейства (FGF-19, FGF-21), но только FGF-23 имеет участок для синтеза проконвертазы-фермента с молекулярной массой 30 кДа, расщепляющим FGF-23 на 2 фрагмента: аминокислотный фрагмент 18 кДа и карбоксильный фрагмент 12 кДа. FGF-23 индуцирует повышение экскреции фосфата и гипофосфатемию взаимодействуя с рецепторами, с которыми могут реагировать и другие представители этого семейства [40,41], в то время как фрагменты биологически не активны [42].

FGF-23 содержит 251 аминокислотный остаток и экспрессирован в костной ткани [43–46], в сердце и печени [42,44,47,48], а также присутствует в циркуляции у здоровых людей [49].

Активирующая мутация аргинина в положении 176 или 179 гена FGF-23, препятствуя высвобождению белка FGF-23, повышает биологическую активность фактора и индуцирует снижение реабсорбции фосфата и гипофосфатемию [50].

В противоположность этому инактивирующая мутация гена FGF-23 приводит к развитию аутосомно-рецессивного семейного опухолевого кальциноза (familial tumoral calcinosis FTC), проявляющегося гиперфосфатемией и эктопической кальцификацией, вследствие повышения активности 1α -гидроксилазы и гиперпродукции $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [51].

Инфузия FGF-23 мышам вызывает в течение нескольких часов у животных гипофосфатемию и уменьшение продукции $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, вероятно, вследствие снижения активности 1α -гидроксилазы, так как в почках уменьшается экспрессия мРНК этого фермента [52]. У трансгенных по FGF-23 мышей и у животных, которым имплантировали клетки яичника хомяка с включенным геном FGF-23, в щеточной каемке почечных проксимальных канальцев уменьшается количество Na/Pi Па, замедляется рост и развивается гиперплазия парашитовидных желез [48, 53–55].

Уменьшение Npt2a (Na/Pi Па) в щеточной каемке проксимальных канальцев под влиянием FGF-23 опосредуется, как и в случае ПТГ, через систему цАМФ/протеинкиназа A [56,57], однако инфузия FGF-23 индуцирует гипофосфатемию и у паратиреоидэктомированных животных [58], свидетельствуя о независимом воздействии ПТГ и FGF-23 на почечный транспорт фосфата, но которое реализуется одним механизмом-уменьшением в щеточной каемке единиц Npt2a.

При аутосомно-доминантном гипофосфатемическом рахите, сцепленном с X хромосомой, мутации (описано более 170 различных мутаций) выявляются не в гене FGF-23, а **PHEX** гене (phosphate-regulating gene with homologies to endopeptidases in the X chromosome), кодирующем членов M13 семейства эндопептидаз [59].

PHEX является мембраносвязанным ферментом, экспрессированным в костной ткани (остеобласты, остециты), зубах и меньшей степени в легких, мозгу, яичниках и testis [6,60], вызывающим ингибицию продукции или деградацию FGF-23. В результате мутации уровень FGF-23 оказывается повышенным в 10 раз у Нур мышей (модель XLH человека) и в меньшей степени у больных с XLH [37].

Не исключено, что в происхождении гипофосфатемии определенную роль играет **MEPE** матриксный внеклеточный фосфогликопротеин (matrix extracellular phosphoglycoprotein), известный также как остеобласт/остеоцитный фактор 45, значение которого более очевидно при ТЮ [61,62]. Во всяком случае концентрация с терминального фрагмента **MEPE** (ASARM peptides) повышена в сыворотке больных XLH и Нур мышей [63], но уровень интактного **MEPE** не превышает нормальных значений [64].

У здоровых людей концентрация MEPE не коррелирует с уровнем фосфата в сыворотке и минеральной насыщенностью скелета [64]. У гибридов мышей MEPE-/- и Нур отсутствие MEPE не предупреждало развитие гипофосфатемии и дефектов скелета [65].

В отличие от вышеописанных заболеваний ТЮ развивается у больных с приобретенными мезенхимальными или смешанными, в большинстве случаев доброкачественными опухолями соединительной ткани, продуцирующими FGF-23, MEPE, сигнальный белок FRP4 (frizzled related protein-4) или FGF-7 [50, 52,53,62,66].

Поскольку тумор-ассоциированная остеомаляция характеризуется персистирующей гипофосфатемией, **FRP4** и **FGF-7** также считают фосфатонинами.

FRP4 представляет собой посттрансляционно модифицированный белок с молекулярной массой около 40 000 kDa. **FRP4** и еще 7 других белков, объединенных в семейство (frizzled related proteins), содержат обогащенный цистеином домен, высоко гомологичный мембранным Wnt рецепторам [67,68]. Последние играют важную роль в различных биологических процессах, включая эмбриогенез и развитие злокачественных опухолей и нейродегенеративных заболеваний [69].

Имеется большое число секретируемых лигандов Wnt, 19 из которых идентифицировано в геноме человека. Эти лиганды преобразуют паракринные сигналы, взаимодействуя с 10 мембранными рецепторами.

FRP4 ингибирует транспорт фосфата в почечных клетках опоссума и обладает фосфатурическим эффектом in vivo [70]. У мышей и крыс инфузия FRP4 вызывает повышение экскреции Pi, в то время как концентрация в сыворотке 1,25(OH)₂ D₃ не изменяется. В моче животных уровень цАМФ сохраняется стабильным, но в почечной ткани усиливается фосфорилирование β-катенина, обладающего анти-Wnt эффектом. Все вышеперечисленные фосфатонины способны индуцировать гипофосфатемию, однако действуют ли они одновременно или последовательно, предстоит решать в дальнейших исследованиях.

Еще одним генетическим дефектом, сопровождающимся гипофосфатемией, является фиброзная дисплазия (ФД), развивающаяся у больных с McCune-Albright синдромом. Описанный в 1937г. синдром характеризуется фиброзной дисплазией скелета, пигментацией кожи, приобретающей окраску «кофе с молоком», и преждевременным половым созреванием преимущественно у девочек. Нередко у больных, страдающих синдромом McCune-Albright, обнаруживаются и другие эндокринологические отклонения: гиперфункция гипофиза (синдром Кушинга, акромегалия, гигантизм), двухсторонняя феохромоцитома, гипертиреоз, аденома надпочечников. Наблюдающаяся у 50% больных гипофосфатемия и нарушение минерализации скелета являются следствием активирующей мутации GNAS1 гена, повышающей активность рецепторов различных гормонов, передающих сигнал с помощью G-протеина [71,72]. В сыворотке больных повышена концентрация FGF-23, а костные клетки экспрессируют мРНК FGF-23 [45]. Синдром McCune-Albright встречается спорадически и не передается по наследству.

К. White и соавт. [40] недавно описали больных с активирующей мутацией рецепторов 1 типа FGF (FGFR1), индуцирующей остеоглофоническую дисплазию (ОД). Последняя, передающаяся аутосомно-доминантно, характеризуется краниофациальными нарушениями, краниосиностозом, ризомелическим дварфизмом, брахидактилией и патологическими переломами. У части больных выявляется гипофосфатемия и низкая концентрация кальцитриола в сыворотке. Описаны 3 мутации FGFR1 (N330I; Y372C и C379R), вызывающие дефект кальцификации костной ткани.

Генетические нарушения транспорта фосфата

в почках встречаются достаточно редко. Так, часто наиболее распространенного XLH составляет приблизительно 1:20000, тогда как негенетическая гипофосфатемия представляет ординарную находку у обследуемых по различным поводам больных.

Патогенетическими механизмами негенетической гипофосфатемии являются или нарушение абсорбции фосфата в желудочно-кишечном тракте, или его чрезмерные потери с мочой, или переход внеклеточного P_i во внутриклеточное пространство.

Причинами умеренной гипофосфатемии, связанной с повышенными потерями фосфата с мочой, являются первичный гиперпаратиреоз; гиперпаратиреоз, персистирующий после трансплантации почки, алкоголизм, неконтролируемый диабет, метаболический или респираторный ацидоз, увеличение объема внеклеточной жидкости, приём некоторых лекарственных препаратов (кальцитонина, диуретиков, глюкокортикоидов, бикарбоната).

Нарушение всасывания фосфата в желудочно-кишечном тракте часто является следствием злоупотребления антацидами, *malabsorption*, голодания, алкоголизма, уменьшения в рационе витамина D. Усиленное поступление фосфатов из внеклеточного пространства в клетки наблюдается при выходе из голодания, при коррекции гипонатриемии и ацидоза, у больных сепсисом, острой подагрой, при отравлении салицилатами, во время бластного криза при лейкомии, при внутривенном введении инсулина, глюкозы, фруктозы. Так, по данным M. Betro и R. Rain [73], более чем у половины стационарных больных с уровнем P_i менее 0,7 ммоль/л причиной гипофосфатемии являлось внутривенное введение глюкозы, в то время как пероральное потребление сахаров оказывает менее выраженный эффект.

Конверсия P_i в органические фосфаты возможна в процессе гликолиза при взаимодействии глицеральдегид-3-фосфата с цитоплазматическим P_i с образованием 1,3 дифосфоглицерата и перехода АДФ в АТФ, при окислительном фосфорилировании, во время которого митохондриальный P_i используется для формирования АТФ из АДФ, при расщеплении гликогена с последовательным образованием глюкозо-1-фосфата и глюкозо-6-фосфата. Эти процессы вызывают снижение P_i в сыворотке в среднем на 25% [74].

Некоторые из перечисленных выше причин (алкогольная абстиненция, парентеральное питание, диабетический кетоацидоз, респираторный алкалоз, ожоги, нарушение всасывания фосфора в кишечнике и потери с мочой) способны индуцировать тяжелую гипофосфатемию. Последняя может

сопровождаться нарушениями со стороны ЦНС вплоть до развития судорог и комы, снижением содержания в эритроцитах 2,3-дифосфоглицерата, повышением их ригидности и гемолизом [75], повышенной склонностью к инфекционным осложнениям вследствие нарушения функции лейкоцитов/макрофагов [76], развитием миопатии и рабдомиолиза [77,78]. Длительно персистирующая гипофосфатемия индуцирует остеомаляцию.

У больных с выраженной гипофосфатемией наблюдаются снижение скорости клубочковой фильтрации и метаболические нарушения (снижение внутриклеточного P_i , АТФ, предшественников фосфолипидов, глюконеогенеза, чувствительности к инсулину, уменьшение продукции $1.25(OH)_2D_3$). Кроме того, выявляется ряд состояний, отчасти связанных с изменениями транспортных характеристик почек (гиперкальциурия, снижение тубулярной реабсорбции Na^+ , гипермагнезурия, бикарбонатурия, метаболический ацидоз и т.д.).

Умеренная гипофосфатемия ($>2,0$ мг/дл) обычно не вызывает клинических проявлений и не требует лечения. Более выраженные отклонения P_i (у взрослых $<1,0$ мг/дл и у детей $<2,0$ мг/дл) обычно корректируются диетой, обогащенной фосфатами. Например, больным с нарушенным питанием можно дополнительно рекомендовать молоко, в 1 л которого содержится 1 г фосфора, причем снятое молоко переносится лучше, чем цельное. Богаты фосфатами так же сыры, мясо, рыба и другие содержащие белок продукты. Фосфаты в виде калиевой или натриевой соли в таблетках можно назначать перорально в дозе до 3,0 г/сут. Через 60-120 мин после употребления 1,0 г фосфата его уровень в сыворотке повышается на 1,5 мг/дл. Натрия фосфат можно вводить в клизме по 15,0-30,0 мл 3-4 раза в сутки.

Потеря в сутки более 3,3 г фосфата вызывает тяжелую гипофосфатемию со снижением фосфора в сыворотке до $\leq 0,5$ г/дл. В отсутствие выраженной клинической симптоматики больным в течение нескольких дней назначают по 1,0-3,0 г фосфата (всего 6-10 г). При гипофосфатемии, сопровождающейся клиническими проявлениями, суточная доза фосфата увеличивается до 3,0 г/сут (20,0 г в течение 1 нед). При невозможности перорального приема фосфат вводят внутривенно (1,0 г в 1 л жидкости в течение 8 час). Как правило, это позволяет повысить концентрацию P_i в сыворотке более 1 мг/дл.

Наряду с возмещающей терапией необходимо пытаться устранить причину гипофосфатемии (удалить аденому паращитовидной железы, опухоль при ПЮ, скорректировать ацидоз и т. д.). При генетичес-

кой гипофосфатемии (XLH, ADHR) устранение причины гипофосфатемии невозможно, однако и в этих случаях назначение $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ способно (за исключением резистентных форм) положительно влиять на минеральный метаболизм. Аналогичным образом, кальцитриол уменьшает гипофосфатемии и проявления остеопороза при синдроме Фанкони [79]. Последний, наследственный или приобретенный, вариант характеризуется нарушением транспортер- или энергия-зависимого транспорта аминокислот в проксимальных канальцах. Он, как правило, сопровождается гипофосфатемией [80].

Тиазиды – единственный класс диуретиков, индуцирующих повышение экскреции фосфатов, несмотря на уменьшение объема внеклеточной жидкости [81]. Поэтому у больных с тенденцией к гипофосфатемии следует избегать назначения тиазидов.

В норме концентрация неорганического фосфора в плазме (P_{pi}), равная 0,75-1,45 ммоль/л, определяется фосфатной нагрузкой (L_{pi}) и способностью почек реабсорбировать и экскретировать фосфаты, что отражает следующее уравнение:

$$P_{pi} = L_{pi} / \text{СКФ} + \text{TR}_{pi} / \text{СКФ},$$

где СКФ – скорость клубочковой фильтрации, а TR_{pi} – тубулярная реабсорбция фосфата. При нормальной СКФ и нормальной максимальной реабсорбции P_{pi} (Tm_{pi}) в пересчете на единицу функционирующей почечной ткани (нефрон), выражаемой отношением $\text{Tm}_{pi} / \text{СКФ}$, содержание P_i в сыворотке остается нормальным даже при увеличении фосфатной нагрузки в 2–3 раза. Существенное повышение уровня фосфатемии наблюдается при сочетании увеличенной L_{pi} со сниженной СКФ. Основные причины гиперфосфатемии перечислены в таблице.

Выше подробно обсуждались механизмы развития гипофосфатемии на фоне повышенной секреции ПТГ. В условиях сниженной продукции гормона (первичный гипопаратиреоз, генетический или приобретенный, обусловленный хирургической или лучевой деструкцией; при аутоиммунной эндокри-

нопатии с появлением аутоантител к ПЩЖ или к ПЩЖ и другим эндокринным железам; при псевдогипопаратиреозе, связанном с нарушением структуры ПТГ-рецепторов на органах-мишенях: псевдогипо-паратиреоз Ia типа-наследственная остеодистрофия Albright и псевдогипопаратиреоз II типа без явной генетической основы, но неспособностью ПТГ вызвать фосфатурию) повышается тубулярная реабсорбция фосфата и развивается гиперфосфатемия, хотя основным клиническим проявлениям перечисленных состояний является гипокальциемия.

Гиперфосфатемия наблюдается также при перегрузке железом (талассемия, гемохроматоз) и медью (болезнь Вильсона-Коновалова).

Экзотической причиной гиперфосфатемии, обусловленной уменьшением выведения фосфата с мочой, является гуморальный кальциноз, наследственная болезнь, развивающаяся на фоне повышения в сыворотке концентрации кальцитриола и характеризующаяся образованием болезненных отложений фосфата кальция в мягких тканях и суставах. Причиной заболевания является инактивирующая мутация *GALNT3* гена, кодирующего *UDP-N-ацетил- α -D-галактозамин/полипептид-N-ацетилгалактоза-минил трансферазу 3* – фермента, ответственного за гликозилирование белков [82].

GALNT3 экспрессирован в костной и других тканях, а заболевание, связанное с его вовлечением, является аутосомно-рецессивным. У гетерозиготов имеются слабовыраженные биохимические отклонения [83].

Наряду с *GALNT3* у больных гуморальным кальцинозом выявлена инактивирующая мутация *FGF-23* (*S71G*), вызывающая нарушение структуры *FGF-23* с повышением концентрации аномального продукта в сыворотке крови, но сниженным содержанием нормального *FGF-23* [84]. К развитию гуморального кальциноза приводит также мутация *S129G* гена *FGF-23* [85].

Повышение $\text{Tm}_{pi} / \text{СКФ}$, ассоциированное со снижением экскреции цАМФ и гиперфосфатемией, на-

Основные причины гиперфосфатемии

Увеличение тубулярной реабсорбции (повышение $\text{Tm}_{pi} / \text{СКФ}$)	Увеличение фосфатной нагрузки (повышение $L_{pi} / \text{СКФ}$)	Перераспределение с выходом фосфата из клеток во внеклеточное пространство
Гипопаратиреоз Псевдогипопаратиреоз Ювенильный гипогонадизм Постменопауза Гипертиреоз Акромегалия Лечение бисфосфонатами Гуморальный кальциноз	Снижение СКФ при острой и хронической почечной недостаточности Увеличение абсорбции в ЖКТ на фоне лечения вит. D Лечение фосфат-содержащими слабительными или антацидами, клизмами Трансфузия старой крови Ожог белым фосфором	Респираторный ацидоз Диабетический кетоацидоз Лактатный ацидоз Нетравматический рабдомиолиз Гипертермия Цитотоксичная терапия Гемолиз Усиление катаболизма

блюдается, как упоминалось, при гипопаратиреозе или резистентности к действию ПТГ, а также во младенческом возрасте (неонатальная гиперфосфатемия) [86], при гипوماгнемии вследствие уменьшения секреции ПТГ [87], при гипертиреозе в результате повышения метаболизма [88]. В то же время лечение литием, являющимся ингибитором активности аденилатциклазы, не сопровождается гиперфосфатемией.

Во всех перечисленных случаях, а также при лечении бис- фосфонатами и при уменьшении объема внеклеточной жидкости на фоне приема диуретиков, повышение фосфора сыворотки обычно не превышает 0,5-1,0 ммоль/л, но бывает и менее выраженным и временным.

Гиперфосфатемия, обусловленная чрезмерной нагрузкой фосфатами, часто носит транзиторный характер и бывает связана у младенцев с потреблением большого количества коровьего молока, а у взрослых – с интрагастральным его введением при ulcerации слизистой желудка [73]. Такой же эффект оказывает прием содержащих фосфат слабительных (Fleets phosphosoda) и внутривенное введение фосфатов, предпринимаемое в связи с гиперкальциемией.

Гиперфосфатемия наблюдается также при переливании старой крови и при ожогах белым фосфором, во время военных действий, который при контакте с кислородом образует пентоксид фосфора (P_2O_5), превращающийся после взаимодействия с водой в пиррофосфорную кислоту ($P_2O_5 + H_2O \rightarrow H_2P_2O_7$) и в последующем в ортофосфористую кислоту ($H_2P_2O_7 + H_2O \rightarrow 2H_3PO_4$). Последняя, всасываясь через кожу, может повысить уровень фосфата в крови на 3–4 ммоль/л. У кроликов это в сочетании с низким кальцием сыворотки способно вызвать летальный исход [89].

В отличие от экзогенной фосфатной нагрузки, при которой баланс фосфора остается положительным, эндогенная фосфатная нагрузка развивается при высвобождении фосфата из костей или мягких тканей, а внешний баланс фосфора становится отрицательным.

При множественных костных метастазах высвобождение фосфора из костной ткани не превышает 5–10 ммоль/сут, что при нормальной функции почек не сопровождается гиперфосфатемией. В то же время в эксперименте респираторный ацидоз в течение нескольких часов повышает концентрации P_i в крови на 5–6 ммоль/л [90], хотя не известно, встречаются ли такие нарушения у человека. Лактат-ацидоз и кетоацидоз увеличивают содержание фосфора в сыворотке на 3,3 и 1,8 ммоль/л при одинаковых рН и уровне азота мочевины [91].

Высвобождение фосфата из мягких тканей встречается при травме, рабдомиолизе, тепловом шоке, идиопатической параксизмальной миоглобулинурии. В этих случаях повышение уровня фосфора в сыворотке обуславливается не только выходом P_i из поврежденных тканей, но и с развитием острой почечной недостаточности [92,93].

Цитостатическая терапия вызывает массивную деструкцию клеток с высвобождением в циркуляцию внутриклеточных компонентов. При острой лимфобластной лейкемии, различных типах лимфомы, острых миелопролиферативных синдромах назначение цитостатиков в течение 1–2 дней вызывает лизис опухолевых клеток (синдром лизиса опухоли) с повышением в сыворотке уровня фосфора и мочевой кислоты [94–96].

Экскреция фосфата с мочой при синдроме лизиса опухоли начинает увеличиваться в первые 12 ч и сохраняется высокой в течение 2 суток, достигая 100-200 ммоль/сут. Следует иметь в виду, что содержание фосфора в лимфобластах и миелобластах в 4 раза выше, чем в зрелых клетках. Гиперфосфатемия может наблюдаться при гемолизе и при рассасывании гематомы.

W. Miller и соавт. [97] описали 3 члена одной семьи, у которых наблюдались немотивированные эпизоды тяжелой гиперфосфатемии, сопровождающиеся лихорадкой, судорогами, гиперфосфатурией и полиурией. В интервале тщательное обследование не выявило у обследованных какой-либо патологии и причина описанных изменений осталось не выясненной.

В силу перманентно увеличивающегося числа больных с хронической почечной недостаточностью важнейшее значение по своим последствиям имеет гиперфосфатемия, развивающаяся при нарушении функции почек, однако этот вопрос будет обсужден в последующем сообщении.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Hernando N, Foster I, Biber J, Murer H. Molecular characteristics of phosphate transporters and their regulation. *Exp Nephrol* 2000; 8: 366-375
2. Forster I, Kohler K, Biber J et al. Modulation of renal type IIa Na^+/Pi cotransporter kinetics by the arginine modifier phenylglyoxal. *J Membr Biol* 2002; 15: 18785-18796
3. Forster I, Loo D, Eskandari S. Stoichiometry and Na^+ binding cooperativity of rat and flounder renal II Na^+-Pi cotransporters. *Am J Physiol* 1999; 276: F644-F649
4. Murer H, Lotscher M, Kaissing B et al. Renal brush border membrane Na/Pi -cotransport: molecular aspects in PTH-dependent and dietary regulation. *Kidney Int* 1996; 49: 1769-73
5. Murer H, Hernando N, Forster I, Biber J. Molecular aspects in regulation renal phosphate reabsorption: the type IIa sodium/inorganic phosphate co-transporter as the key player. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001; 10: 555-561
6. Beck L, Karaplis A, Amizuka N et al. Targeted inactivation of Npt 2 in mice leads to severe renal phosphate wasting,

- hypercalciuria and skeletal abnormalities. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 5372-5377
7. Segawa H, Kaneko I, Itho M et al. Regulation of renal type IIc Na/Pi cotransporter by dietary phosphate. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13 [Suppl]: 279
 8. Segawa H, Kaneko I, Takahashi A et al. Growth-related renal type II Na/Pi cotransporter. *J Biol Chem* 2002; 277: 19665-19672
 9. Levi M, Kempson S, Lotscher M et al. Molecular regulation of renal phosphate transport. *J Membr Biol* 1996; 154: 1-9
 10. Levi M, Lotscher M, Sorribas V et al. Cellular mechanisms of acute and chronic adaptation of renal Pi transporters to alteration in dietary Pi. *Am J Physiol* 1994; 267: F900-F908
 11. Miyamoto K, Itho M. Transcriptional regulation of the Npt2 gene by dietary phosphate. *Kidney Int* 2001; 60: 412-425
 12. Biber J, Custer M, Magagnin S et al. Renal Na/Pi-cotransporters. *Kidney Int* 1996; 49: 981-985
 13. Biber J, Murer H, Forster I. The renal type II Na⁺/phosphate cotransporter. *J Bioenerg Biomembr* 1998; 30: 187-194
 14. Biber J, Hernando N, Traebert M et al. Parathyroid hormone-mediated regulation of renal phosphate reabsorption. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 29 [Suppl]: 29-30
 15. Murer H, Biber J. Control of proximal tubular apical Na/Pi cotransport. *Exp Nephrol* 1996; 4: 201-204
 16. Murer H, Biber J. Traffic and control of proximal tubular sodium phosphate Na/Pi-cotransport. *Wien Kein Wochenschr* 1997; 109: 441-444
 17. Pfister M, Lederer E, Forgo J et al. Parathyroid hormone dependent degradation of type II Na⁺/Pi cotransporters. *J Biol Chem* 1997; 272: 20125-20130
 18. Pfister M, Ruf I, Stange G et al. Parathyroid hormone leads to the lysosomal degradation of the renal type II Na/Pi cotransporter. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 1909-1914
 19. Caverzasio J, Rizzoli R, Bonjour J. Sodium-dependent phosphate transport inhibited by parathyroid hormone and cyclic AMP stimulation in an opossum kidney cell line. *J Biol Chem* 1986; 261: 3233-3237
 20. Pollock A, Warnock D, Stewler G. Parathyroid hormone inhibition of Na⁺-H⁺ antiporter activity in a cultured renal cell line. *Am J Physiol* 1986; 19: F217- F225
 21. Nihizuka Y. The role of protein kinase C in cell surface signal transduction and tumor promotion. *Nature* 1984; 308: 693-698
 22. Lederer E, Kuhundmiri S, Weinman E. Role of NHERF-1 in regulation of the activity Na-K-ATPase and sodium phosphate cotransport in epithelial cells. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1711-1719
 23. Levi M. Role PDZ domain containing proteins and ERM proteins in regulation of renal function and dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1949-1951
 24. De Luca H, Schnoes H. Vitamin D recent advances. *Annu Rev Biochem* 1983; 52: 411-439
 25. Duschett J. Renal tubular effects of vitamin D and its metabolism. *Adv Exp Med Biol* 1977; 81: 29-40
 26. Knox F, Ossuald H, Marchand G et al. Phosphate transport along nephron. *Am J Physiol* 1997; 233: F261-F268
 27. Kumar R. Vitamin D metabolism and mechanisms of calcium transport. *J Am Soc Nephrol* 1990; 1: 30-42
 28. Kumar R. Vitamin D and calcium transport. *Kidney Int* 1991; 40: 1177-1189
 29. Omdahl J, Holick M, Suda T et al. Biological activity of 1,25-dihydroxycholecalciferol. *Biochemistry* 1971; 10: 2935-2940
 30. Steele T, Engle J, Tanaka Y et al. Phosphatemic action of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Am J Physiol* 1975; 229: 489-495
 31. Tanaka Y, De Luca H. The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus. *Arch Biochem Biophys* 1973; 154: 566-574
 32. Tanaka Y, De Luca H. Role of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in maintaining serum phosphorus and curing rickets. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974; 71: 1040-1044
 33. De Luca H, Schnoes H. Metabolism and mechanism of action of vitamin D. *Annu Rev Biochem* 1976; 45: 631-666
 34. Omdahl J, De Luca H. Regulation of vitamin D metabolism and function. *Physiol Rev* 1973; 53: 327-372
 35. Portale A, Halloran B, Murphy M, Morris R. Oral intake of phosphorus can determine the serum concentration of 1,25-dihydroxyvitamin by determining its production rate in human. *J Clin Invest* 1986; 77: 7-12
 36. Tenenhouse H, Martel J, Ganthier C et al. Renal expression of the sodium phosphate transporter gene Npt2, is not required for regulation of renal 1 α -hydroxylase by phosphate. *Endocrinology* 2001; 142: 112-129
 37. Yamashita T, Yoshioka M, Itoh N. Identification of novel fibroblast growth factor, FGF-23, preferentially expressed in the ventrolateral thalamic nucleus of the brain. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 277: 494-498
 38. White K, Cabral J, Davis S et al. Mutations that cause osteoglophonic dysplasia define novel roles for FGFR1 in bone elongation. *Am J Hum Genet* 2005; 76: 361-367
 39. Yamashita T, Konishi M, Miyake A et al. Fibroblast growth factor (FGF-23) inhibits renal phosphate reabsorption by activation of the nitrogen activated protein kinase pathway. *J Biol Chem* 2002; 277: 28265-28270
 40. Shimada T, Muto T, Urakawa I et al. Mutant FGF-23 responsible for autosomal dominant hypophosphatemic rickets is resistant to proteolytic cleavage and cause hypophosphatemia in vivo. *Endocrinology* 2002; 143: 3179-3182
 41. Liu S, Guo R, Simpson L et al. Regulation of fibroblastic growth factor 23 expression not degradation by PHEX. *J Biol Chem* 2003; 278: 37419-37426
 42. Mirams M, Robinson B, Mason R, Nelson A. Bone as source of FGF-23: regulation by phosphate. *Bone* 2004; 35: 1192-1199
 43. Riminucci M, Collins M, Fedarko N et al. FGF-23 in fibrous dysplasia of bone and its relationship to renal phosphate wasting. *J Clin Invest* 2003; 112: 683-692
 44. Sitara D, Razzaque M, Hesse M et al. Homozygous ablation of fibroblast growth factor-23 results in hyperphosphatemia and impaired skeletogenesis and reverses hypophosphatemia in PheX-deficient mice. *Matrix Biol* 2004; 23: 421-432
 45. ADHR Consortium: Autosomal dominant hypophosphatemic rickets/Osteomalacia: clinical characterization of novel renal phosphate wasting disorder. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 674-681
 46. Shimada T, Hasegawa H, Yamazaki Y et al. FGF-23 is potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 429-435
 47. Jonsson K, Zahraduik R, Larsson T et al. Fibroblast growth factors in oncogenic osteomalacia and X-linked hypophosphatemia. *N Engl J Med* 2003; 348: 1656-1663
 48. White K, Carn G, Loreuz-Depiereux B et al. Autosomal dominant hypophosphatemic rickets (ADHR) mutation stabilize FGF-23. *Kidney Int* 2001; 60: 2079-2086
 49. Benet-Pages A, Orlic P, Strom T, Lorenz-Depiereux B. An FGF-23 missense mutation causes familial tumoral calcinosis with hyperphosphatemia. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 385-390
 50. Carpenter T, Ellis B, Insogna K et al. An inhibitor of phosphate transport derived from oncogenic osteomalacia-causing tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 1012-1020
 51. Bai K, Miao D, Goltzman D, Kazaplis A. The autosomal dominant hypophosphatemic rickets R176Q mutation in fibroblast growth factor 23 resists proteolytic cleavage and enhances in vivo biological potency. *J Biol Chem* 2003; 278: 9843-9849
 52. Bai K, Miao D, Li J et al. Transgenic mice overexpressed human fibroblast growth factor 23 (R176Q) delineate a putative role for parathyroid hormone in renal phosphate wasting disorders. *Endocrinology* 2004; 145: 5269-5279
 53. Larsson T, Marsell R, Schirani E et al. Transgenic mice expressing fibroblast growth factor 23 under the control of alpha 1 collagen promoter exhibit growth retardation, osteomalacia and disturbed phosphate homeostasis. *Endocrinology* 2004; 145: 3087-3094
 54. Matrin K, Meconkey C, Baldassare J et al. Effect of

- triamcinolone on parathyroid hormone-stimulated second messenger systems and phosphate transport in opossum kidney cells. *Endocrinology* 1994; 134: 331-336
55. Murer H, Jurg B. A molecular view on proximal tubular inorganic phosphate (Pi) reabsorption and its regulation. *Pflugers Arch* 1997; 433: 379-389
56. Saito H, Kusano K, Kinoshita M et al. Human fibroblast growth factor 23 mutants suppress Na⁺ dependent phosphate cotransport activity and 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ production. *J Biol Chem* 2003; 278: 2206-2211
57. Hyp Consortium A gene (PEX) with homologies to endopeptidases is mutated in patients with X-linked hypophosphatemic rickets. *The Hyp Consortium Nat Genet* 1995; 11: 130-136
58. Miao D, Bai X, Panda D et al. Osteomalacia in hyp mice is associated with abnormal phex expression and with altered bone matrix protein expression and deposition. *Endocrinology* 2001; 142: 926-939
59. Rowe P, De Zoysa P, Dong R et al. MEPE, a new gene expressed in bone marrow and tumors causing osteomalacia. *Genomics* 2000; 67: 54-68
60. Zhang M, Wang X, Wang T et al. Dietary phosphorus transcriptionally regulates 25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylase gene expression in the proximal renal tubule. *Endocrinology* 2002; 143: 587-595
61. Jan De Beur S, Finnegan R, Vassiliadis J et al. Tumors associated with oncogenic osteomalacia express genes important in bone and mineral metabolism. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 1102-1110
62. Bresler D, Bruder J, Mohnike K et al. Serum MEPE-ASAPM peptides are elevated in X-linked rickets HYP: implications for phosphateuria and rickets. *J Endocrinology* 2004; 183: R1-R9
63. Mirams M, Robinson B, Mason R, Nelson A. Bone as a source of FGF-23. Regulation by phosphate? *Bone* 2004; 35: 1192-1199
64. Jan De Beur S, Jain A, Kham M, Fedarco N. Matrix extracellular phosphoglycoprotein (MEPE) fragments circulate in excess in patients with tumor induced osteomalacia (TIO) and X-linked hypophosphatemic rickets (XLH). *J Bone Miner Res* 2004; 19: F 479
65. Liu S, Brown T, Zhon J et al. Role of matrix extracellular phosphoglycoprotein in the pathogenesis of X-linked hypophosphatemia. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 1645-1653
66. Shimada T, Uracawa I, Yamazaki Y et al. FGF-23 transgenic mice demonstrate hypophosphatemic rickets with reduced expression of sodium phosphate cotransporter IIa. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 314: 409-414
67. Jones S, Jomary C. Secreted frizzled related proteins: searching for relationships and pattern. *Bio Essays* 2002; 24: 811-820
68. Raftner A, Hsieh J, Smallwood P et al. A family of secreted proteins contains homology to the cysteine-rich domain. *Nature* 2001; 412: 86-90
69. Miller J. The Wnts. *Genome Biol* 3: reviews, 2002; 3001
70. Berndt T, Craig T, Bowe A et al. Secreted frizzled related protein 4 is a prominent tumor derived phosphaturic agent. *J Clin Invest* 2003; 112: 785-94
71. Collins M, Chebli C, Jones J et al. Renal phosphate wasting in fibrous dysplasia of bone is part of a generalized renal tubular dysfunction similar to that seen in tumor-induced osteomalacia. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 806-813
72. Weinstein L, Shenker A, Gejman P et al. Activating mutations of the stimulatory G-protein in the McCune-Albright syndrome. *N Engl J Med* 1991; 325: 1688-1695
73. Betro M, Pain R. Hypophosphatemia and hyperphosphatemia in a hospital population. *Brit Med J* 1972; 1: 273-276
74. Soskin S, Levine R. Carbohydrate metabolism. 2nd ed. The Univ. of Chicago Press, Chicago, 1952
75. Jacob H, Amsden T. Acute hemolytic anemia and rigid red cells in hypophosphatemia. *New Engl J Med* 1971; 285: 1446
76. Craddick P, Yawta Y, Van Santen I. Acquired phagocyte dysfunction: a complication of the hypophosphatemia of parenteral hyperalimentation. *New Engl J Med* 1974; 290: 1403-1405
77. Knochel J, Bilbrey G, Fuller T et al. The muscle cell in chronic alcoholism. The possible role of phosphate depletion in alcoholic myopathy. *Ann NY Acad Sci* 1975; 252: 274-277
78. Knochel J, Barceñas C, Cotton J et al. Hypophosphatemia and rhabdomyolysis. *J Clin Invest* 1978; 62: 1240-44
79. Dalmak S, Erek E, Serdengeci K et al. A case study of adult onset hypophosphatemic osteomalacia with idiopathic Fanconi syndrome. *Nephron* 1996; 72: 121-122
80. Roth K, Foreman J, Segal S. The Fanconi syndrome and mechanisms of tubular transport dysfunction. *Kidney Int* 1981; 20: 705-716
81. Parfitt A. The acute effects of mersalyl, chlorothiazide and mannitol on the excretion of calcium and other electrolytes in man. *Clin Sci* 1969; 36: 267-82
82. Topaz O, Shurman D, Bergman R et al. Mutations in GALNT3, encoding a protein involved in O-linked glycosylation, cause familial tumoral calcinosis. *Nat Genet* 2004; 36: 579-581
83. Ichikawa S, Lyles K, Econs M. A novel GALNT3 mutation in pseudoautosomal dominant form of tumoral calcinosis: evidence that the disorder is autosomal recessive. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2420-2423
84. Larsson T, Yu X, Davis S et al. A novel recessive mutation in fibroblast growth factor-23 causes familial tumoral calcinosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 2424-2427
85. Araya K, Fukumoto S, Backenroth R et al. A mutation in FGF23 gene enhances the processing of FGF-23 protein and causes tumoral calcinosis. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 1160
86. Linarelli L, Bobik J, Bobik C. Newborn urinary cyclic AMP and developmental renal responsiveness to parathyroid hormone. *Pediatrics* 1972; 50: 14-23
87. Medalle R, Waterhouse C. A magnesium deficient patient presenting with hypocalcemia and hyperphosphatemia. *Ann Intern Med* 1973; 79: 76-79
88. Cook P, Nassim R, Collins J. The effects of thyrotoxicosis upon the metabolism of calcium, phosphorus and nitrogen. *Q J Med* 1959; 28: 505-529
89. Bowman T, Whelan T, Nelson T. Sudden death after phosphorus burns: experimental observation of hypocalcemia, hyperphosphatemia and electrocardiographic abnormalities following production of a standard white phosphorus burns. *Ann Surg* 1971; 174: 779-784
90. Giebish G, Berger L, Pitts R. The extrarenal response to acute acid-base disturbances of respiratory origin. *J Clin Invest* 1955; 34: 237-245
91. O'Connor L, Klein L, Bethune J. Hyperphosphatemia in lactic acidosis. *N Engl J Med* 1977; 297: 707-709
92. Grossman R, Hamilton W, Morse B et al. Nontraumatic rhabdomyolysis and acute renal failure. *N Engl J Med* 1974; 291: 807-811
93. Koffler A, Fiedler R, Massry S. Acute renal failure due to nontraumatic rhabdomyolysis. *Ann Intern Med* 1976; 85: 23-28
94. Tanaka Y, Frank H, De Luca H. Intestinal calcium transport: stimulation by low phosphorus diets. *Science* 1973; 181: 564-6
95. Brereton H, Anderson T, Johnson R, Schein P. Hyperphosphatemia and hypocalcemia in Burkitt lymphoma. *Arch Intern Med* 1975; 135: 307-309
96. Zusman J, Brorson D, Nesbit M. Hyperphosphatemia, hyperphosphaturia and hypocalcemia in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1973; 289: 1335-1340
97. Miller W, Meyer W, Bartter F. Intermittent hyperphosphatemia, polyuria and seizures - a new familial disorder. *J Pediatr* 1975; 86: 233-235

Поступила в редакцию 11.05.2007 г.

Принята в печать 22.06.2007 г.

© О.Б.Кузьмин, М.О.Пугаева, 2007
УДК 616.61-036.12-08.224

О.Б. Кузьмин, М.О. Пугаева

КАРДИОПРОТЕКТИВНАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК

O.V. Kuzmin, M.O. Pugaeva

CARDIOPROTECTIVE THERAPY OF PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE

Кафедра фармакологии Оренбургской государственной медицинской академии, Россия

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, кардиопротективная терапия, ингибиторы АПФ, блокаторы АТ₁-ангиотензиновых рецепторов, β-адреноблокаторы.

Key words: chronic kidney disease, cardioprotective therapy, ACE inhibitors, AT₁-receptor blockers, β-adrenoceptor blockers.

Улучшение прогноза и снижение смертности больных с хронической болезнью почек (ХБП) от сердечно-сосудистых осложнений является одной из основных задач современной превентивной нефрологии. Сейчас стало очевидным, что формирование ХБП сопровождается нарастающим повреждением сердца, центральных и периферических сосудов, которое ускоряет прогрессирование сердечно-сосудистых заболеваний. Клинически эти нарушения наиболее часто проявляются в ишемической болезни сердца (ИБС), причиной которой является атеросклероз коронарных сосудов, и гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ), способствующей его декомпенсации и развитию хронической сердечной недостаточности (ХСН). Повреждение сердечно-сосудистой системы начинается уже на ранних стадиях ХБП, проявляется существенным увеличением сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности у лиц с III стадией заболевания и достигает максимума у больных с терминальной почечной недостаточностью, смертность которых от сердечно-сосудистых причин составляет около 50% [1–3].

Прирост сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности у больных с III–V стадиями ХБП предполагает необходимость проведения у них адекватной кардиопротективной терапии с учетом нарастающего повышения риска сердечно-сосудистых осложнений. Между тем, подходы к кардиопротективной терапии таких пациентов во многом остаются неясными, несмотря на широкое применение в качестве нефропротективных средств препаратов, обладающих выраженным кардиопротективным действием. Это касается, прежде всего,

ингибиторов АПФ и антагонистов АТ₁-ангиотензиновых рецепторов, лечебный эффект которых обусловлен угнетением избыточной активности циркулирующей (плазменной) и тканевых ренин-ангиотензин-альдостероновых систем (РААС) сердца, сосудов и почек, а также β-адреноблокаторов 3 поколения, которые не только подавляют активность симпатико-адреналовой системы (САС), но и обладают дополнительными сосудорасширяющими и антиоксидантными свойствами.

В настоящем обзоре обсуждаются результаты клинических исследований, посвященных разработке современных подходов к кардиопротективной терапии больных с ХБП разной степени тяжести.

Нефропротекция как фактор кардиопротективной терапии больных с ХБП

Тесная зависимость сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности больных с ХБП от тяжести нефропатии указывает на прямое участие почек в патогенезе развивающихся у них сердечно-сосудистых осложнений. Действительно, нарастающее повреждение и нарушение функции почек у таких пациентов ведет к включению в механизм формирования у них сердечно-сосудистых расстройств многочисленных факторов риска, которые ускоряют развитие и прогрессирование сердечно-сосудистых заболеваний. К ним относятся активация САС, повышение активности циркулирующей и тканевых РААС, увеличение содержания в крови асимметричного диметиларгинина, гомоцистеина и других уремических токсинов, дислиппротеидемия, нарушение электролитного

баланса, анемия и т.д. [4–6]. В связи с этим следует ожидать, что адекватная нефропротективная терапия, замедляющая у больных с ХБП прогрессирование почечного повреждения, сама по себе может оказывать кардиопротективный эффект, проявляющийся в снижении риска сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности.

Этот тезис получил подтверждение при ретроспективной оценке результатов исследований LIFE и RENAAL, в которых изучалась зависимость частоты сердечно-сосудистых осложнений у лиц с ХБП от уровня альбуминурии, отражающей тяжесть повреждения почек при различных видах нефропатий.

Исследование LIFE включало 8206 гипертензивных больных с ГЛЖ, которые для антигипертензивной терапии с целевым уровнем АД менее 140/90 мм рт. ст. получали антагонист АТ₁-ангиотензиновых рецепторов лосартан или β₁-адреноблокатор атенолол. Из этих пациентов было выделено 6679 лиц, имевших разную степень исходной микроальбуминурии (МАУ) и уровень креатинина крови, не превышавший 160 мкмоль/л. К концу наблюдения, продолжавшегося в среднем 4,8 года, в этой группе больных было отмечено 383 случая смерти от сердечно-сосудистых причин, 344 нефатальных инфарктов миокарда и 479 нефатальных инсультов. Анализ этих данных показал, что у пациентов с высокими исходными значениями МАУ риск смерти от сердечно-сосудистых причин, нефатальных инфарктов миокарда и инсультов в 3–4 раза выше, чем у больных, имеющих низкие начальные значения этого показателя. Более того, в исследуемой группе больных была выявлена тесная прямая корреляция между степенью снижения МАУ под влиянием длительной антигипертензивной терапии и положительной динамикой сердечно-сосудистой смертности, которая не зависела от возраста пациентов, анамнеза предшествующих сердечно-сосудистых заболеваний, фрамингемских факторов риска или наличия у них сахарного диабета [7, 8].

Аналогичная закономерность обнаружена и в исследовании RENAAL при ретроспективной оценке связи сердечно-сосудистых исходов с динамикой альбуминурии у 1513 больных сахарным диабетом 2 типа с выраженной дисфункцией почек. В их число были включены лица с отношением альбумин/креатинин в утренней порции мочи, превышавшем 0,3 г/г, и содержанием в крови креатинина 132–264 мкмоль/л, получавшие в течение 3,4 года лосартан в качестве нефропротективного средства. К концу наблюдения выяснилось, что больные с высокой исходной альбуминурией (альбумин/креа-

тинин мочи ≥ 3,0 г/г) имеют повышенный в 2,7 раза риск госпитализации по поводу обострения ХСН и в 1,92 раза более высокий риск достижения первичной конечной точки (смерть от сердечно-сосудистых причин, инфаркт миокарда, госпитализация по поводу ХСН или нестабильной стенокардии) по сравнению с пациентами с относительно низким начальным уровнем потери белка с мочой (альбумин/креатинин мочи < 1,5 г/г). Мультивариантный анализ подтвердил также, что благоприятная динамика альбуминурии в этой популяции больных является наиболее точным прогностическим показателем вероятных сердечно-сосудистых осложнений: снижение ее на 50% уменьшает число госпитализаций по поводу обострения ХСН на 27% и снижает риск смерти от сердечно-сосудистых причин, инфаркта миокарда, ХСН и нестабильной стенокардии на 18% [9].

Эти данные прямо указывают на то, что адекватная нефропротективная терапия гипертензивных больных с ГЛЖ, имеющих МАУ, или больных сахарным диабетом 2 типа с выраженной нефропатией сопровождается эффективной кардиопротекцией, которая способствует существенному снижению у них сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности.

Влияние снижения АД на риск сердечно-сосудистых осложнений у больных с ХБП

Строгий контроль величины АД, направленный на устранение внутриклубочковой гипертензии, является одной из главных целей нефропротективной терапии гипертензивных больных с ХБП. Основанием для такой терапии является наличие у больных МАУ, клинически выраженной альбуминурии (≥ 300 мг/сут, отношение альбумин/креатинин мочи ≥ 0,2 г/г) и/или концентрации креатинина в крови выше 132 мкмоль/л (1,5 мг/дл) для мужчин или 124 мкмоль/л (1,4 мг/дл) для женщин. Для всех пациентов с I–IV стадиями ХБП рекомендуется целевой уровень АД < 130/80 мм рт. ст., при выявлении протеинурии более 1 г/сут – < 125/75 мм рт. ст. [10–12]. Недавно K/DOQI рекомендовал больным с V стадией ХБП в качестве целевого преддиализного артериального давления – АД < 140/90 мм рт. ст., а постдиализного – АД < 130/80 мм рт. ст. [13].

Нормализация повышенного АД у больных с ХБП является также одним из основных факторов, препятствующих прогрессированию ГЛЖ, ИБС и других заболеваний сердечно-сосудистой системы. Однако известно, что избыточное снижение АД пациентам с артериальной гипертензией, вызывающее рефлекторную стимуляцию САС и цирку-

лирующей РААС, сопровождается повышением риска смерти от сердечно-сосудистых причин. Следует также иметь в виду, что кровоснабжение миокарда по коронарным сосудам происходит во время диастолы сердца. Вполне очевидно, что снижение диастолического АД у больных ИБС ниже критических значений может способствовать увеличению риска коронарных событий и развитию инфаркта миокарда. В связи с этим возникает вопрос, не оказывают ли неблагоприятное влияние на риск сердечно-сосудистых осложнений у лиц с ХБП те целевые значения АД, которые рекомендуются им для нефропротективной терапии. В последнее время появились исследования, в которых целенаправленно анализируется зависимость сердечно-сосудистых и почечных исходов в этой популяции больных от степени снижения АД.

Одной из первых стала работа, посвященная ретроспективной оценке результатов исследования IDNT, которое включало 1715 гипертензивных больных с явной диабетической нефропатией (протеинурия $> 0,9$ г/сут, сывороточный креатинин > 264 мкмоль/л), лечившихся блокатором AT_1 -ангиотензиновых рецепторов ирбесартаном или антагонистом кальция амлодипином. Из них были отобраны 1590 пациентов, у которых на фоне лекарственной терапии в течение 2,6 лет контролировалась динамика среднего, систолического (САД) и диастолического артериального давления (ДАД). В результате установлено, что риск достижения суммарной почечной конечной точки (удвоение сывороточного креатинина и/или конечная стадия ХБП) неуклонно падает по мере снижения САД с 180 до 120 мм рт. ст. При этом степень риска прогрессирования нарушения функции почек у лиц с САД < 120 мм рт. ст. и у пациентов с САД 121-130 мм рт. ст. практически не отличается. Связь между динамикой ДАД и почечными исходами отсутствует. Однако кардиопротективное действие антигипертензивной терапии сохраняется только при снижении САД примерно до уровня 120 мм рт. ст., так как у больных с САД < 120 мм рт. ст. риск смерти от сердечно-сосудистых причин и ХСН уже превышает аналогичные показатели в общей группе лиц с САД > 120 мм рт. ст. соответственно в 4,06 и 1,8 раза. При уровне ДАД < 85 мм рт. ст. смертность от инфаркта миокарда достоверно возрастает в 1,61 раза [14, 15].

Тесная связь между повышенной смертностью нефрологических больных и низким уровнем АД обнаружена и в обсервационном исследовании, включавшем 860 лиц с III-V стадиями ХБП диабетического и недиабетического происхождения. Для сравнения больные были разделены на отдель-

ные группы с САД < 133 , 133-154, 155-170 и > 170 мм рт. ст. Проведенный затем многофакторный анализ показал, что у лиц с IV-V стадиями ХБП, имеющих САД < 133 мм рт. ст., происходит значительный прирост сердечно-сосудистой смертности до уровня, который даже превышает аналогичный показатель в группе пациентов с САД > 170 мм рт. ст. Увеличение смертности от сердечно-сосудистых причин наблюдается и при низких значениях ДАД. Так, при ДАД, равном 65-75 мм рт. ст., уже отмечается существенный прирост этого показателя по сравнению с лицами, имеющими ДАД > 86 мм рт. ст., а при его снижении < 65 мм рт. ст. сердечно-сосудистая смертность больных возрастает почти в 1,84 раза [16].

Похожие данные получены при изучении зависимости частоты мозговых инсультов от степени снижения АД у гипертензивных больных с III-IV стадиями ХБП. В этом исследовании, продолжавшемся более 2 лет, участвовали 20 358 лиц с артериальной гипертензией, из которых 1549 больных имели СКФ менее 60 мл/мин. По степени снижения АД все пациенты были разделены на группы с САД < 120 , 120-129 и > 130 мм рт. ст. В результате выяснилось, что, независимо от наличия или отсутствия у больных ХБП, снижение САД до 120-129 мм рт. ст. сопровождается нарастающим уменьшением риска развития этого осложнения. Однако при дальнейшем снижении АД риск развития инсульта у больных с умеренной ХБП, в отличие от пациентов с сохраненной функцией почек, возрастает в среднем в 2,51 раза по сравнению с лицами, имеющими САД на уровне 120-129 мм рт. ст. [17].

Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что агрессивная антигипертензивная терапия больных с III-V стадиями ХБП, направленная на эффективную нефропротекцию, сопровождается увеличением риска сердечно-сосудистых осложнений и повышением смертности от сердечно-сосудистых причин.

Ингибиторы РААС как средства кардиопротективной терапии больных с ХБП

В группу лекарственных средств, подавляющих активность циркулирующей и тканевых РААС, входят ингибиторы АПФ, блокаторы AT_1 -ангиотензиновых рецепторов и антагонисты альдостерона, препятствующие избыточному возбуждению минералкортикоидных рецепторов сердца, сосудов и почек. Первые две группы препаратов, обладающие выраженными кардио- и нефропротективными свойствами, широко применяются для лечения сердечно-сосудистых и почечных заболеваний.

В общей популяции больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями ингибиторы АПФ эффективно снижают риск смерти и других сердечно-сосудистых осложнений у больных с дисфункцией ЛЖ после перенесенного инфаркта миокарда [18, 19]. Препараты этой группы значительно повышают также выживаемость пациентов с ХСН и поэтому показаны всем больным при любой этиологии и стадии этого процесса [20]. Подобные кардиопротективные эффекты характерны и для блокаторов АТ₁-ангиотензиновых рецепторов, которые по своей клинической эффективности у постинфарктных больных с дисфункцией ЛЖ и больных ХСН с низким сердечным выбросом сравнимы с ингибиторами АПФ [21–23]. Эффективность ингибиторов АПФ при ИБС без ХСН или дисфункции ЛЖ подвергалась сомнению, однако мета-анализ результатов лечения ингибиторами АПФ 33 960 таких больных в длительных контролируемых исследованиях подтвердил их способность снижать сердечно-сосудистую смертность, риск развития инфаркта миокарда и инсульта и в этой группе пациентов [24].

У больных с ХБП ингибиторы РААС также оказывают кардиопротективный эффект, но спектр их кардиопротективной активности имеет некоторые особенности.

Об этом свидетельствуют результаты исследования RENAAL, которое первоначально было посвящено изучению нефро- и кардиопротективных свойств лосартана при добавлении его к обычной антигипертензивной терапии больных сахарным диабетом 2 типа с явной нефропатией. Через 3,4 года лечения в группе пациентов, принимавших лосартан, был отмечен достаточно выраженный нефропротективный эффект, который, однако, не сопровождался существенным улучшением показателей сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности за исключением достоверного снижения на 32% числа госпитализаций больных по поводу ХСН [25]. Аналогичные результаты получены и в исследовании IDNT, в котором был проведен сравнительный анализ влияния ирбесартана и амлодипина на сердечно-сосудистые исходы в похожей по составу группе пациентов, состоявшей из гипертензивных больных с выраженной диабетической нефропатией. Спустя 2,6 года лечения было установлено, что ирбесартан при добавлении к обычной антигипертензивной терапии также достоверно уменьшает частоту госпитализаций по поводу ХСН на 28% по сравнению с группой плацебо и на 35% по сравнению с группой амлодипина, но не оказывает заметного влияния на другие показатели сердечно-сосудистой заболеваемости

и смертности [28]. Эти данные предполагают, что кардиопротективный эффект блокаторов АТ₁-ангиотензиновых рецепторов при включении их в антигипертензивную терапию больных сахарным диабетом 2 типа с нефропатией ограничивается в основном замедлением темпов развития и прогрессирования ХСН.

Значительно более высокая кардиопротективная активность выявляется у ингибиторов РААС в группе недиабетических больных с III–IV стадиями ХБП, имеющих различные клинические проявления ИБС.

В исследовании PEACE, продолжавшемся около 5 лет, проведено сравнение исходов лечения трандалаприлом 1355 пациентов со стабильной стенокардией без систолической дисфункции ЛЖ, имевших СКФ менее 60 мл/мин, и 6935 аналогичных больных с сохраненной функцией почек. Результаты этой работы не только подтвердили тесную связь дисфункции почек и повышенной смертности больных ИБС от сердечно-сосудистых причин, но и убедительно показали, что добавление к лечению ингибитора АПФ способствует улучшению прогноза жизни больных с умеренной ХБП, снижая у них общую и сердечно-сосудистую смертность в среднем на 27% [27]. Высокая кардиопротективная активность препаратов этого ряда продемонстрирована и в исследовании SAVE, которое было посвящено сравнению влияния каптоприла на динамику сердечно-сосудистых осложнений после перенесенного инфаркта миокарда у 719 лиц с III–IV стадиями ХБП и 1464 пациентов с СКФ более 75 мл/мин. В качестве конечной точки использовался комбинированный показатель, включавший смерть от сердечно-сосудистых причин, развитие ХСН и повторный инфаркт миокарда. В конце наблюдения, продолжавшегося 3,5 года, общее количество всех сердечно-сосудистых событий в первой и второй группах пациентов составило соответственно 5,5 и 12,4 на 100 больных, что свидетельствует о более выраженном кардиопротективном действии ингибиторов АПФ у лиц с ХБП [28]. Похожий кардиопротективный эффект выявляется и при назначении гипертензивным больным с умеренной ХБП, перенесшим инфаркт миокарда или инсульт, блокатора АТ₁-ангиотензиновых рецепторов кандесартана. Спустя 3 года лечения в этой группе пациентов общее количество инфарктов миокарда, инсультов и госпитализаций по поводу ХСН оказалось в среднем на 17,6% меньше, чем в группе больных, не имевших ранее в анамнезе инфаркта миокарда или нарушение мозгового кровообращения. Особенно благоприятное влияние кандесартан оказывал на динамику развития ХСН,

уменьшая число госпитализаций по ее поводу на 66,4% [29].

Сведения о кардиопротективной активности ингибиторов РААС у пациентов с конечной стадией ХБП, оказались менее определенными.

Самой крупной в этом плане стала работа, в которой в течение 2 лет изучалось влияние фозиноприла на сердечно-сосудистые исходы у 196 додиализных больных с V стадией заболевания, большинство из которых имели повышенное АД. Группу сравнения составил 201 больной, получавший обычную терапию. К концу наблюдения, несмотря на более выраженный антигипертензивный эффект у лиц, лечившихся ингибитором АПФ, между двумя группами пациентов не было выявлено существенной разницы в общем количестве сердечно-сосудистых осложнений, включая смерть от сердечно-сосудистых причин, госпитализацию по поводу ХСН, нефатальные инфаркты миокарда и инсульта [30]. В то же время имеются данные о том, что ингибиторы АПФ и блокаторы АТ₁-ангиотензиновых рецепторов оказывают благоприятное влияние на смертность додиализных больных с тяжелой дисфункцией почек, госпитализированных по поводу обострения ХСН. Назначение ингибиторов РААС таким пациентам снижает 30-дневную смертность во время пребывания их в стационаре в среднем на 55%. Последующий амбулаторный прием этих препаратов в течение 1 года ведет к дополнительному снижению этого показателя еще на 28% [31].

Сведения относительно кардиопротективных свойств ингибиторов РААС у больных, получающих диализную терапию, также неоднозначны. Так, согласно данным А.К. Berger и соавт., добавление ингибитора АПФ или блокатора АТ₁-ангиотензиновых рецепторов к лекарственной терапии диализных больных, госпитализированных по поводу обострения ХСН, не оказывает заметного влияния на их смертность как после 30-дневного пребывания в стационаре, так и спустя 1 год амбулаторного лечения [31]. С другой стороны показано, что назначение лицам, находящимся на хронической

гемодиализной терапии, антагониста АТ₁-ангиотензиновых рецепторов кандесартана, оказывает выраженный кардиопротективный эффект, который спустя 19 месяцев лечения сопровождается достоверным снижением случаев нестабильной стенокардии, инфарктов миокарда, ХСН и внезапной смерти по сравнению с контрольной группой пациентов [32].

Таким образом, результаты, полученные в длительных контролируемых исследованиях, позволяют считать, что у недиабетических больных с III–IV стадиями ХБП, имеющих клинические проявления ИБС, ингибиторы АПФ и заменяющие их блокаторы АТ₁-ангиотензиновых рецепторов эффективно снижают смертность от сердечно-сосудистых причин, препятствуя развитию ХСН, инфаркта миокарда и, в меньшей степени, инсульта. Антагонисты АТ₁-ангиотензиновых рецепторов обладают также достаточно выраженным кардиопротективным действием у гипертензивных больных сахарным диабетом 2 типа с явной нефропатией, которое проявляется в замедлении прогрессирования ХСН. Способны ли ингибиторы РААС оказывать кардиопротективный эффект у пациентов с конечной стадией ХБП остается неясным, хотя они рекомендуются в качестве антигипертензивных препаратов первой линии для лечения диализных больных, имеющих ХСН или перенесенный инфаркт миокарда (таблица).

Блокаторы β₁-адренорецепторов и кардиопротективная терапия больных с ХБП

Современные β-адреноблокаторы представляют собой большую группу лекарственных средств с разнообразными фармакологическими свойствами. Наиболее известными из них являются традиционные β-адреноблокаторы 1 и 2 поколений, отличающиеся различной селективностью к β₁-адренорецепторам миокарда, почек и других органов. В последнее время в клиническую практику внедрены препараты 3 поколения, среди которых наибольший интерес представляют небиволол и, особенно, карведилол, обладающий дополнительными

Антигипертензивные средства у диализных больных [33]

Показания	Препараты выбора	Не рекомендуются
Хроническая сердечная недостаточность После инфаркта миокарда Гипертрофическая кардиомиопатия, диастолическая дисфункция ЛЖ Хронические обструктивные заболевания легких Ишемическая кардиомиопатия, стенокардия	БРА, иАПФ, β-АБ иАПФ, β-АБ БКК, β-АБ БРА, иАПФ, БКК β-АБ, иАПФ, БРА, БКК	Прямые вазодилататоры Прямые вазодилататоры, α-АБ β-АБ Прямые вазодилататоры

Примечание: БРА – блокаторы АТ₁-ангиотензиновых рецепторов, иАПФ – ингибиторы ангиотензин 1-превращающего фермента, β-АБ – β-адреноблокаторы, БКК – блокаторы Ca²⁺-каналов, α-АБ – α-адреноблокаторы.

сосудорасширяющими, антиоксидантными и противовоспалительными свойствами.

Препараты этого ряда оказывают выраженный кардиопротективный эффект и поэтому широко применяются для снижения риска сердечно-сосудистых осложнений и улучшения прогноза жизни у больных с артериальной гипертонией и ИБС [34]. На основании результатов длительных, контролируемых исследований β -адреноблокаторы бисопролол, метопролол-сукцинат и карведилол рекомендованы для лечения всем больным со стабильным течением ХСН, получающим стандартную терапию и не имеющих противопоказаний к их применению [20]. Карведилол, пропранолол и тимолол существенно увеличивают также выживаемость больных с дисфункцией ЛЖ после перенесенного инфаркта миокарда, уменьшая у них риск внезапной смерти и частоту госпитализаций по поводу обострения ХСН [35, 36].

β -Адреноблокаторы занимают важное место среди лекарственных средств для лечения больных с ХБП, поскольку не только обеспечивают оптимальную кардиопротекцию при ИБС и некоторых формах ХСН, но и помогают при подключении к другим антигипертензивным препаратам достичь целевые уровни АД, необходимые для эффективной нефропротекции. Более того, карведилол и другие современные β -адреноблокаторы 3 поколения сами по себе способны оказывать достаточно выраженный нефропротективный эффект, который не зависит от их антигипертензивного действия и проявляется у больных с диабетической и гипертонической нефропатией, получающих ингибиторы АПФ или блокаторы AT_1 -ангиотензиновых рецепторов [37, 38].

В недавней работе M.Chonchol и соавт. проведена суммарная оценка эффективности предотвращения карведилолом, метопрололом и атенололом случаев внезапной смерти в группе лиц с легкой дисфункцией почек (СКФ < 75 мл/мин), выделенных из 1218 постинфарктных пациентов с клинически выраженной левожелудочковой ХСН. Мультивариантный анализ, проведенный после 2-летнего периода наблюдения, подтвердил, что у больных, имеющих II стадию ХБП, примерно в 2 раза увеличивается риск внезапной смерти от сердечных аритмий, в то время как длительная терапия β -адреноблокаторами достоверно снижает его к концу лечения в среднем на 39,0 % [39].

Большинство других исследований, посвященных изучению кардиопротективных свойств этих препаратов при ХБП, в основном касаются уремических больных, которые имеют наиболее высокий риск смертности от сердечно-сосудистых осложнений.

Недавно были опубликованы результаты крупномасштабного эпидемиологического исследования, одной из задач которого была оценка влияния длительной антигипертензивной терапии различными лекарственными средствами, включая ингибиторы АПФ, блокаторы кальциевых каналов и другие препараты, на показатели выживаемости 11142 гемодиализных больных, входивших ранее в базу данных USRDS. Анализ полученных результатов показал, что из всех классов лекарственных препаратов клинически наиболее эффективными в этой группе пациентов являются β -адреноблокаторы, длительное применение которых способствует снижению риска общей смертности, включающей главным образом смертность от сердечно-сосудистых и почечных причин, в среднем на 28% [40].

Сведения о кардиопротективном действии β -адреноблокаторов у пациентов, получающих диализную терапию, пока ограничиваются в основном данными об их влиянии на динамику развития и прогрессирования ХСН.

В одной из таких работ проведено сравнение исходов длительного лечения этими препаратами 2550 гемодиализных больных, разделенных на группы лиц с клиническими признаками ХСН и не имевших ранее в анамнезе клинических проявлений этого синдрома. В результате установлено, что β -адреноблокаторы относительно малоэффективны как средства профилактики сердечно-сосудистых осложнений у больных с уже сформировавшейся ХСН, но снижают на 31% риск развития ХСН, сердечно-сосудистой и общей смертности у пациентов, не имевших ранее клинических признаков сердечной недостаточности [41]. По данным, полученным в небольшой группе гемодиализных больных с ХСН разной степени тяжести, кардиопротективный эффект β -адреноблокатора карведилола достаточно хорошо выражен уже спустя 6 месяцев лечения. К этому времени у пациентов отмечается достоверное улучшение фракции выброса ЛЖ, других показателей центральной гемодинамики, уменьшается выраженность клинических симптомов ХСН и повышается качество жизни [42]. Особенно эффективным карведилол оказался у уремических больных с дилатационной кардиомиопатией. Добавление этого препарата к лекарственной терапии оказывает у таких пациентов благоприятное влияние не только на процессы ремоделирования миокарда, но спустя 2 года лечения почти в 2 раза снижает их сердечно-сосудистую заболеваемость и смертность, способствуя уменьшению числа случаев фатальных инфарктов миокарда, инсультов и госпитализаций по поводу обострения ХСН [43, 44].

В целом, β -адреноблокаторы рассматриваются сейчас в качестве основных лекарственных средств для достижения целевых уровней АД и профилактики сердечно-сосудистых осложнений у лиц, получающих хроническую диализную терапию (таблица). Однако прямые доказательства способности этих препаратов снижать сердечно-сосудистую заболеваемость и смертность у додиализных больных с III–V стадиями ХБП отсутствуют. Практические рекомендации по их применению в этих группах пациентов основываются на результатах контролируемых исследований, выполненных в общей популяции больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9 [Suppl 12]: S16-S23
- Excerpts from the United States Renal Data System's 2000 Annual Report: Atlas of end-stage renal disease in the United States. *Am J Kidney Dis* 2000; 36 [Suppl 2]: S1-S137
- Go AS, Chertow GM, Fan D et al. Chronic kidney disease and the risks of the death, cardiovascular events and hospitalization. *N Engl J Med* 2004; 351 (13): 1296-1306
- Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC et al. Kidney disease as a factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American heart association, councils on kidney in cardiovascular disease, high blood pressure research, clinical cardiology, epidemiology and prevention. *Circulation* 2003; 108 (17): 2154-2169
- Карабаева АЖ, Каюков ИГ, Есаян АМ, Смирнов АВ. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система при хронической болезни почек. *Нефрология* 2006; 10 (4): 43-47
- Кузьмин ОБ. Хроническая болезнь почек и состояние сердечно-сосудистой системы. *Нефрология* 2007; 11 (1): 28-37
- Ibsen H, Olsen MH, Wachtell K et al. Reduction in albuminuria translates to reduction in cardiovascular events in hypertensive patients. *Hypertension* 2005; 45 (2): 198-202
- Olsen MH, Wachtell K, Ibsen H et al. Reductions in albuminuria and in electrocardiographic left ventricular hypertrophy independently improve prognosis in hypertension: the LIFE study. *J Hypertens* 2006; 24 (4): 775-781
- de Zeeuw D, Remuzzi G, Parving H-H et al. Albuminuria, a therapeutic target for cardiovascular protection in type 2 diabetic patients with nephropathy. *Circulation* 2004; 110 (8): 921-927
- Chobanian A, Bakris GL, Black HR et al. Seventh report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure. *Hypertension* 2003; 42 (6): 1206-1252
- Guidelines Committee. 2003 European Society of hypertension / European Society of cardiology guidelines for management of arterial hypertension. *J Hypertens* 2003; 21 (6): 1011-1053
- National Kidney Foundation: K/DOQI clinical practice guidelines on hypertension and antihypertensive agents in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2004; 43 [Suppl 1]: S1-S290
- K/DOQI clinical practice guidelines for cardiovascular disease in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005; 45 [Suppl 3]: S49-S57
- Pohl M, Blumenthal S, Cordonnier D et al. Independent and additive impact of blood pressure control and angiotensin II receptor blockade on renal outcomes in the Irbesartan Diabetic Nephropathy Trial (IDNT): clinical implications and limitations. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (10): 3027-3037
- Berl T, Hunsicker L, Lewis J et al. Impact of achieved blood pressure on cardiovascular outcomes in the irbesartan diabetic nephropathy trial. *J Am Soc Nephrol* 2005; 7 (10): 2170-2179
- Kovesdy CP, Trivedi BK, Kalantar-Zadeh K, Anderson JE. Association of low blood pressure with increased mortality in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21 (5): 1257-1262
- Weiner DE, Tighiouart H, Levey AS et al. Lowest systolic blood pressure is associated with stroke in stages 3 to 4 chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18 (3): 960-967
- Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Result of the survival and enlargement trial. The SAVE Investigators. *N Engl J Med* 1992; 327 (3): 669-677
- Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure. The Acute Infarction Ramipril Efficacy (AIRE) Study Investigators. *Lancet* 1993; 342 (8875): 821-828
- Национальные рекомендации ВНОК и ОССН по диагностике и лечению ХСН (второй пересмотр). *Журнал Сердечная недостаточность* 2007; 8 (1): 4-41
- Pfeffer MA, McMurray JJ, Velazquez EJ et al. Valsartan in Acute Myocardial Infarction Trial Investigators: valsartan, captopril or both in myocardial infarction complicated by heart failure, left ventricular dysfunction or both. *N Engl J Med* 2003; 349 (19): 1893-1906
- McKelvie RS, Yusuf S, Pericak D et al. Comparison of enalapril and their combination in congestive heart failure: Randomized evaluation of strategies for left ventricular dysfunction (RESOLVD) pilot study. *Circulation* 1999; 100 (8): 1056-1064
- Pitt B, Poole-Wilson PA, Segal R et al. Effect of losartan compared with captopril on mortality in patients with symptomatic heart failure: randomized trial – The Losartan Heart Failure Survival Study ELITE II. *Lancet* 2000; 360 (9215): 752-760
- Danchin N, Cucherat M, Thuillez C et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors in patients with coronary artery disease and absence of heart failure or left ventricular systolic dysfunction: an overview of long-term randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2006; 166 (7): 787-796
- Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D et al. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 2001; 345 (12): 861-869
- Berl T, Hunsicker LG, Lewis JB et al. Cardiovascular outcomes in the Irbesartan Diabetic Nephropathy Trial of patients with type 2 diabetes and overt nephropathy. *Ann Intern Med* 2003; 138 (7): 542-549
- Solomon SD, Rice MM, Jablonski K et al. Renal function and effectiveness of angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy in patients with chronic stable coronary disease in the Prevention of Events with ACE inhibition (PEACE) trial. *Circulation* 2006; 114 (1): 26-31
- Tokmakova MP, Skali H, Kenchail S et al. Chronic kidney disease, cardiovascular risk and response to angiotensin-converting enzyme inhibition after myocardial infarction: the Survival and Ventricular Enlargement (SAVE) study. *Circulation* 2004; 110 (24): 3667-3673
- Nakamura T, Kanno Y, Takenaka T, Suzuki H. An angiotensin receptor blocker reduces the risk of congestive heart failure in elderly hypertensive patients with renal insufficiency. *Hypertens Res* 2005; 28 (5): 415-423
- Zannad F, Kessler M, Leheret P et al. Prevention of cardiovascular events in end-stage renal disease: results of randomized trial for future studies. *Kidney Int* 2006; 70 (7): 1318-1324
- Berger AK, Duval S, Manske C et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers in patients with congestive heart failure and chronic kidney disease. *Am Heart J* 2007; 153 (6): 1064-1073
- Takanashi A, Takase H, Toriyama T et al. Candesartan,

an angiotensin II type-1 receptor blocker, reduces cardiovascular events in patients on chronic hemodialysis: a randomized study. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21 (9): 2507-2512

33. Locatelli F, Covic A, Chazot C et al. Hypertension and cardiovascular risk assessment in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19 (5): 1058-1068

34. Black HP, Sica DA. Modern perspective of beta-blockers use in hypertension: clinical trials and their influence on clinical practice. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2007; 4 [Suppl 4]: 10-18

35. Domanski MJ, Krause-Steinrauf H, Massie BM et al. A comparative analysis of the results from 4 trials of beta-blocker therapy for heart failure: BEST, CIBIS-II, MERIT-HF and COPERNICUS. *J Card Fail* 2003; 9 (5): 354-363

36. Беленков ЮН. Современные подходы к лечению ХСН. *Серд недостаточность* 2001; 2 (1): 6-7

37. Кузьмин ОБ, Пугаева МО, Жежа ВВ. Нефропротективная терапия гипертензивных больных с хронической болезнью почек: есть ли в ней место для β -адреноблокаторов третьего поколения и агонистов I_1 -имидазолиновых рецепторов? *Нефрология* 2006; 10 (2): 18-27

38. Bakris GL, Fonseca V, Katholi RE et al. Differential effects of β -blockers on albuminuria in patients with type 2 diabetes. *Hypertension* 2005; 46 (6): 1309-1315

39. Chonchol M, Goldenberg I, Moss AJ et al. Risk factors for sudden cardiac death in patients with chronic renal insufficiency and left ventricular dysfunction. *Am J Nephrol* 2007; 27 (1): 7-14

40. Foley RN, Herzog CA, Collins AG. Blood pressure and long-term mortality in United States hemodialysis patients: USRDS waves 3 and 4 study. *Kidney Int* 2002; 62 (5): 1784-1790

41. Abbot KC, Trespalacios FC, Agodoa LY et al. β -Blockers use in long-term dialysis patients. *Arch Intern Med* 2004; 164 (22): 2465-2571

42. Синозерская ВА, Назаренко ЕА, Бородулина ЛА. Оценка влияния терапии карведилолом на сердечно-сосудистую систему у пациентов на программном гемодиализе. *Нефрология* 2006; 8 (3): 259-261

43. Nakayama M, Ishii A, Takeguchi F, Nakano H. Efficacy of additional low-dose carvedilol in maintenance hemodialysis patients with asymptomatic left ventricular systolic dysfunction. *J Cardiol* 2006; 47 (6): 285-291

44. Cice G, Ferrara L, D'Andrea A et al. Carvedilol increases two-year survival in dialysis patients with dilated cardiomyopathy. A prospective, placebo-controlled trial. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41 (9): 1438-1444

Поступила в редакцию 14.05.2007 г.

Принята в печать 22.06.2007 г.

© Ф.А.Тугушева, И.М.Зубина, О.В.Митрофанова, 2007
УДК 616.61-036.12:615.015.32

Ф.А. Тугушева, И.М. Зубина, О.В. Митрофанова

ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС И ХРОНИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ ПОЧЕК

F.A. Tugusheva, I.M. Zubina, O.V. Mitrofanova

OXIDATIVE STRESS AND CHRONIC KIDNEY DISEASE

Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия

Ключевые слова: оксидативный стресс, хроническая болезнь почек.

Key words: oxidative stress, chronic kidney disease.

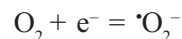
Оксидативный стресс: определение понятия, важнейшие оксиданты, механизм повреждающего действия. Оксидативный (или окислительный) стресс является важным патогенетическим звеном развития самых разных состояний и болезней, в том числе хронической болезни почек (ХБП).

Классическое определение гласит: *оксидативный стресс – это повреждение тканей в результате избыточного образования окислительных компонентов (оксидантов) и недостаточности механизмов антиоксидантной защиты (АОЗ)* [1, 2].

Таким образом, для правильного и полного понимания понятия оксидативный стресс (ОКСТР), необходимо в первую очередь выяснить, какие вещества являются важнейшими оксидантами клетки. Требуется установить пути их образования, понять механизм их токсического действия на клетку и организм в целом, а также разобраться в деталях работы системы АОЗ, поддерживающей равновесие между про- и антиоксидантами.

Среди нормальных метаболитов клетки, обладающих окислительными свойствами, главное место, несомненно, принадлежит так называемым «активным формам кислорода» (АФК), к которым относятся супероксиданион, перекись водорода, оксид азота, пероксинитрит, гидроксильный радикал, гипохлорная кислота. Все вышеперечисленные вещества являются побочными продуктами нормальных метаболических процессов в клетке [3]. Как известно, большая часть процессов окисления происходит в митохондриях клетки и, в меньшей степени, в цитоплазматическом ретикулюме. В частности, энергетический метаболизм клетки основан на образовании АТФ за счет энергии, выделяющейся в результате транспорта электронов

по дыхательной цепи ферментов на внутренней мембране митохондрий. В ходе дегидрирования окисляемого субстрата пара электронов переносится на атом кислорода, который является их конечным акцептором, и после взаимодействия восстановленного атома кислорода с двумя протонами образуется молекула воды. Однако в ходе этого процесса около 1-2% электронов с участием кофермента Q и других убихинонов переносятся на молекулярный кислород с образованием продукта одноэлектронного восстановления – супероксидного радикала. Таким образом, кислород, сам по себе опасности для клетки не представляющий, в силу уникальности электронной структуры может быть восстановлен с образованием активного и токсического интермедиата, супероксидного аниона ($\cdot\text{O}_2$) [2-4]:



Установлено, что в организме млекопитающих супероксиданион постоянно образуется активированными полиморфоядерными фагоцитами (главным образом, нейтрофилами) и мононуклеарными фагоцитами (макрофагами и моноцитами), а также эндотелиальными, гладкомышечными и другими клетками (в частности, в почках – гломерулярным эпителием и мезангиальными клетками) в ходе так называемого «респираторного взрыва» [1,3,5-7]. На молекулярном уровне его суть заключается в запуске мембраносвязанной системы переноса электронов – НАДФ-оксидазного комплекса, который способен осуществлять восстановление молекулярного кислорода в присутствии восстановленного НАДФ [8]. В свою очередь, НАДФ-оксидаза активируется бактериями, дрожжами, пептидами, антителами, активными компонентами комплемента, цитокинами и т.д. (Следует отметить,

что одновременно происходят изменение внутриклеточного уровня ионов кальция, активация фосфолипаз A₂ и D, а также связанное с этим освобождение из мембран компонентов фосфолипидов и т.д.). В результате происходит объединение в мембране компонентов НАДФ-оксидазного комплекса, обеспечение доступа к субстрату по обе стороны мембраны и восстановление за счет НАДФН молекулы кислорода до супероксиданиона [3,8,9], который играет ключевую роль в механизмах защиты против патогенов и опухолевых клеток.

Кроме того, этот продукт одностороннего восстановления кислорода образуется в клетках под действием ксантиноксидазы, альдегидоксидазы, диоксигеназы, цикло-оксигеназ, липоксигеназ, а также спонтанно (за счет автоокисления гидрохинонов, катехоламинов, лейкофлавинов) [4].

Цепь реакций, ведущих к образованию других АФК, можно описать следующим образом.

Как только образуется супероксиданион (а это чрезвычайно нестабильный радикал), он может подвергнуться дисмутации под действием фермента супероксиддисмутазы (СОД) и превратиться в перекись водорода (H₂O₂):



Супероксиданион и перекись водорода являются не самыми мощными компонентами, приводящими к гибели микроорганизмов при «респираторном взрыве», но используются клетками (например, фагоцитами) в качестве предшественников для образования более мощных оксидантов, например, гидроксильного радикала и пероксинитрита [2,7].

Из перекиси водорода в ходе реакции Габера-Вайса образуется гидроксильный радикал ($\cdot\text{OH}$) – продукт трехэлектронного восстановления кислорода и самый активный из инициаторов свободно-радикальных реакций [10]:



Гидроксильный радикал может образовываться также из перекиси водорода в присутствии металлов переменной валентности в ходе реакции Фентона:

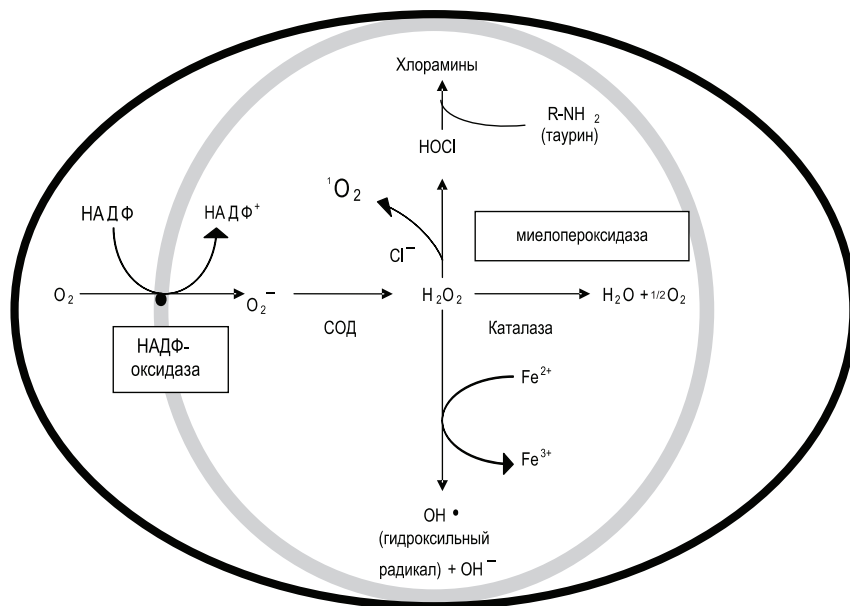
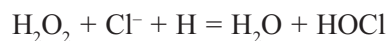


Рис. 1. Схема образования активных форм кислорода в вакуоле фагоцита под действием НАДФ-Н-оксидазного комплекса и образование хлор-содержащих оксидантов в результате работы миелопероксидазной системы (по Descamps-Latscha B. и соавт. [8]).



Взаимодействие перекиси водорода с анионом хлора в ходе реакции, катализируемой миелопероксидазой в фагоцитах, приводит к образованию гипохлорной кислоты (HOCl) [11]:



Необходимо отметить, что миелопероксидаза – единственный фермент, способный приводить к образованию оксидантов, которые содержат хлор.

Гипохлорная кислота (HOCl) является наиболее токсичным и наиболее реакционноспособным веществом из продуцирующихся фагоцитами. Токсический эффект гипохлорной кислоты направлен не только на микроорганизмы, но также липиды, протеоглики и другие важные для метаболизма клетки мембранные и внутриклеточные компоненты, особенно, тиоловые группы мембранных белков, а также внутриклеточные ферменты, нуклеотиды и цитохромы.

Анион OCl⁻ может взаимодействовать с эндогенными аминами (R-NH₂) и превращаться в дальнейшем в различные хлорамины (RNH-Cl) за счет взаимодействия с таурином и β-аминокислотами, которые рассматриваются как избирательные ловушки OCl⁻, например, в лейкоцитах. Кроме того, относительная по сравнению с другими АФК стабильность хлораминов позволяет им накапливаться в очаге воспаления, несмотря на высокую концентрацию антиоксидантов [8] (рис. 1).

Таким образом, из-за особенностей электрон-

ного строения атома кислорода его восстановление идет в несколько этапов и при этом неизбежно образуются побочные продукты нормальных метаболических процессов [9,12]. К этим побочным продуктам относятся так называемые АФК: супероксидный анион (O_2^-), перекись водорода (H_2O_2), гидроксильный радикал ($\text{OH}\cdot$), гипохлорная кислота (HOCl). В физиологических условиях АФК выполняют роль сигнальных молекул. АФК, продуцируемые активированными лейкоцитами и макрофагами, играют ключевую роль в защите от микроорганизмов. При избыточном образовании, однако, АФК чрезвычайно опасны для клетки, так как они инициируют реакции свободнорадикального окисления (СРО) – цепного самоиндуцирующегося процесса непосредственного переноса кислорода на субстрат с образованием перекисей, альдегидов, кетонов. Кроме того, образование АФК сопровождается высвобождением провоспалительных цитокинов, что, в свою очередь, усиливает выработку оксидантов [2].

Говоря об АФК, нельзя не сказать об оксиде азота (NO), образующемся в ходе окисления L-аргинина в L-цитруллин, главным образом, в клетках эндотелия. Однако фермент NO-синтаза, под действием которого образуется эта активная форма кислорода, имеется также в макрофагах, нейтрофилах и многих других клетках, например, клетках гломерулярного мезангия. Его экспрессия происходит при развитии воспаления, в ответ на бактериальные эндотоксины и цитокины. Кофактором NO-синтазы является тетрагидробиоптерин. При его окислении фермент начинает продуцировать супероксиданион, тем самым усиливая ОКСТР [2].

Спектр физиологического действия NO достаточно широк, но основной его эффект заключается в регуляции сосудистого тонуса, в том числе в качестве вазодилатора, в сердце, мозге и почках

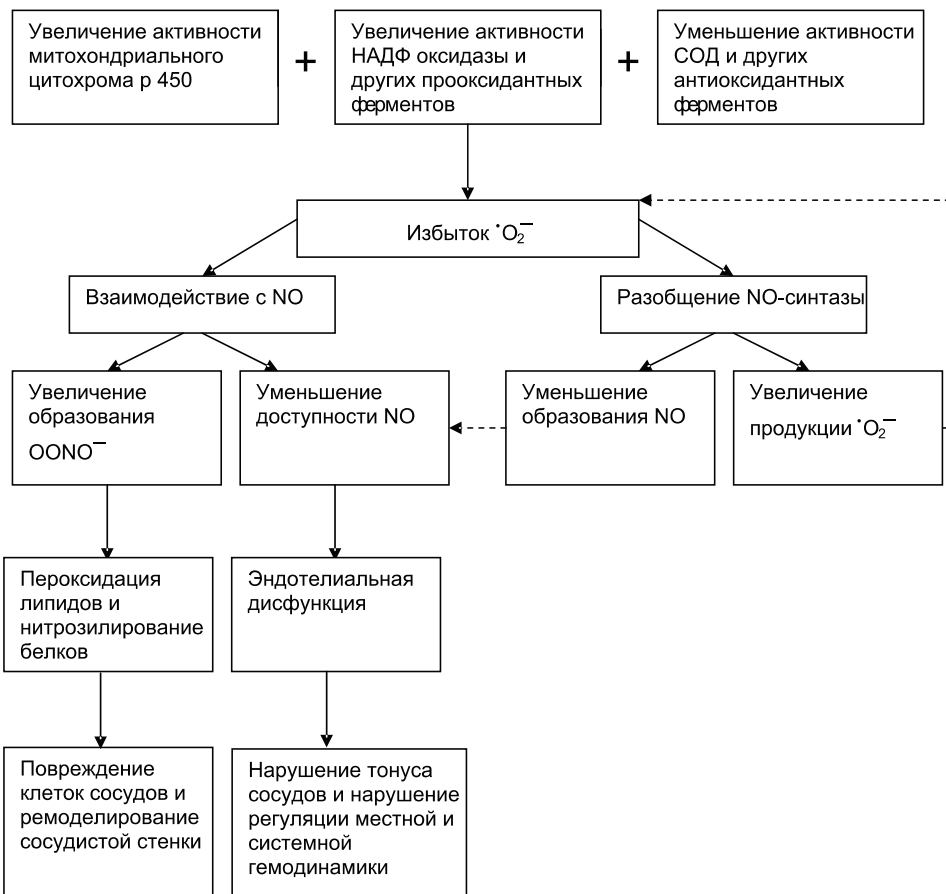


Рис. 2. Многофакторное происхождение, промежуточные этапы и негативные последствия избытка супероксиданиона (O_2^-) в сосудистой системе (по Zalba G. и соавт. [9]).

[8, 13]. В почках оксид азота влияет на гемодинамику главным образом путем регуляции сосудистого тонуса афферентной артериолы [14, 15]. Кроме регуляции сосудистого тонуса NO участвует в процессах пролиферации, cell-to-cell contacts, регуляции кровяного давления [16, 17]. Интерес представляет реакция взаимодействия NO с супероксиданионом с образованием пероксинитрита (ONOO^-) [18, 19], а затем пероксиазотистой кислоты – HOONO , которая превращается в двуоксид азота и особо активный гидроксильный радикал. Это приводит, по крайней мере, к двум результатам. Во-первых, к нарушению эндотелий-зависимой вазодилатации, что сопровождается недостаточной перфузией органов, и к системной артериальной гипертензии. Во-вторых, гидроксильный радикал обладает мощным повреждающим действием на клетки и усугубляет воспаление [1, 13]. Таким образом, NO представляет собой вещество, связывающее и инактивирующее супероксиданион, но при этом происходит образование другого цитотоксического соединения [3] (рис. 2).

Эндогенным ингибитором NO-синтазы является асимметричный диметиларгинин (АДМА), высвобождаемый из белков, которые на посттрансля-

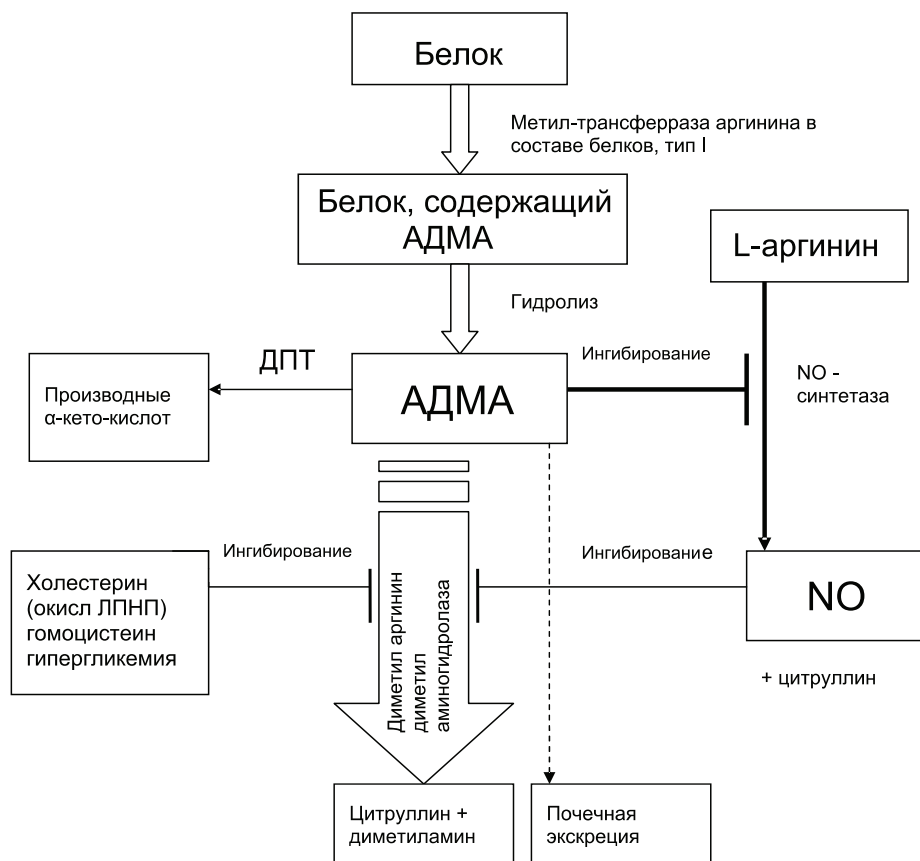


Рис. 3. Биохимические механизмы образования и разрушения эндогенного ингибитора NO-синтазы - асимметрического диметиларгинина (АДМА) (по Kielstein J.T. и соавт. [20]).

ционным этапе были метилированы и в последующем подверглись гидролизу. Остатки аргинина метилируются под действием двух типов ферментов: метилтрансфераза 1 типа катализирует образование АДМА, в то время как фермент 2 типа образует симметричный диметиларгинин, то есть биологически неактивный стереоизомер АДМА. Почки экскретируют АДМА в небольшом количестве, но основное количество АДМА подвергается деградации под действием фермента диметиларгинин диметиламиногидролаза (ДДАГ) [16,17], которая гидролизует молекулу АДМА до диметиламина и L-цитруллина. Совместная локализация ДДАГ и NO-синтазы в клетках поддерживает предположение, что внутриклеточная концентрация АДМА активно регулируется в клетках, генерирующих NO. Эту гипотезу поддерживают недавно опубликованные данные о том, что NO обладает способностью ингибировать ДДАГ, тем самым регулируя свою собственную (локальную) концентрацию, участвуя в метаболизме АДМА. Активность ДДАГ снижается в условиях гиперхолестеринемии и инсулинорезистентности, а также в условиях оксидативного стресса. К сожалению, прямое измерение активности ДДАГ в настоящее

время невозможно [20] (рис. 3).

Установлено, что уровень АДМА положительно коррелирует с возрастом, средней величиной артериального давления, толщиной комплекса интима-медиа [15], частотой сердечно-сосудистых событий [15], нарушением толерантности к глюкозе [17].

Таким образом, с химической точки зрения, АФК – продукты восстановления кислорода – чрезвычайно реакционноспособны и могут самостоятельно запускать цепи самоиндуцирующихся свободнорадикальных реакций. В низких концентрациях АФК выступают в качестве физиологических медиаторов, в то время как более высокие концентрации АФК повреждают клетку вплоть до ее гибели. Физиологический смысл образования АФК состоит в том, что данные

реакции являются составной частью неспецифической защитной системы организма против патогенов, микроорганизмов, опухолевых клеток. Однако нормальные клетки организма также могут стать мишенью АФК, например в участках острого воспаления.

Нарушения, связанные с оксидативным стрессом. Липиды – основная мишень процессов окисления в организме. Реакциям СРО с участием АФК подвергаются аминокислоты, белки, углеводы [21, 22], т.е. все без исключения соединения клетки, однако наиболее чувствительны к СРО липиды: в первую очередь, ненасыщенные жирные кислоты (НЖК), как свободные, так и в составе фосфолипидов (ФЛ) [21]. Процесс СРО липидов, который является необходимым звеном жизнедеятельности любой клетки, получил название перекисного окисления липидов (ПОЛ). В обычных условиях ПОЛ – это физиологический процесс, обеспечивающий в организме фаго- и пиноцитоз, синтез простагландинов (ПГ), лейкотриенов, холестерина (ХС), прогестерона [23]. Этот процесс лежит в основе механизма обновления и перестройки биологических мембран, регуляции их состава, проницаемости и активности мембраносвязанных ферментов [21].

Смысл термина ПОЛ заключается в том, что во всех НеЖК имеется дивинилметановая структура, которая легко вступает в реакцию отрыва водорода от атома углерода в α -положении от двойной связи. Это приводит к образованию стойких свободных радикалов, а в присутствии кислорода – к образованию перекисного радикала, а затем – перекиси [4,10,23]. Однако гидроперекисный радикал и гидроперекись липидов (ГПЛ) запускают новые цепи свободнорадикальных реакций, что замыкает порочный круг и создает благоприятные условия для выхода процесса из-под контроля защитных гомеостатических систем, причем, чем больше содержание в липидах полиненасыщенных жирных кислот (линолевая, линоленовая, арахидоновая), тем выше скорость их перекисления [21]. Кроме того, следует отметить, что степень повреждающего действия кислорода зависит также от его парциального давления и от наличия ионов металлов переменной валентности (главным образом, железа), которые способны вступать в реакции инициирования, разветвления и обрыва цепей СРО.

Первичные продукты ПОЛ – ГПЛ – представляют собой достаточно неустойчивые вещества, которые подвергаются дальнейшему окислению с образованием более устойчивых вторичных продуктов: альдегидов, кетонов, спиртов и низкомолекулярных кислот (муравьиной, уксусной, масляной). Среди продуктов ПОЛ, образовавшихся в результате повторных атак окислителей на НеЖК, ключевое место занимает малоновый диальдегид (МДА).

Учитывая, что основной субстрат липидной перекисидации – НеЖК – является обязательным компонентом любой биологической мембраны, негативные последствия стимуляции реакций ПОЛ отражаются в первую очередь на состоянии всех без исключения клеточных мембран. Включение в состав НеЖК гидроперекисных группировок повышает их гидрофильность, что приводит к взаимной переориентации жирнокислотных остатков и объединению их в перекисные кластеры. Появление последних приводит к возникновению новых каналов проводимости вследствие латеральной диффузии молекул в мембране, снижению текучести и повышению жесткости мембран, нарушению белок-липидных взаимодействий, что, соответственно, препятствует конформационным превращениям ферментов в ригидном матриксе и приводит, чаще всего, к снижению их активности. Появление зон с различной вязкостью может сопровождаться концентрированием рецепторов с образованием рецепторных кластеров и полимер-

ных форм рецепторов с измененным сродством к гормонам [21].

Сходные мембранные изменения касаются и внутриклеточных мембран: по новым каналам проводимости в клетку устремляются ионы кальция, которые мощно активируют фосфолипазы (ФЛ-азы), освобождающиеся из лизосом. Образовавшиеся под действием ФЛ-аз лизоформы ФЛ и свободные жирные кислоты обладают детергентными свойствами, что еще более разупорядочивает мембраны (хаотропный эффект) и делает их более подверженными ПОЛ [21]. Таким образом, замыкается порочный круг, цепь преобразований становится неуправляемой уже в том случае, когда реакция ПОЛ подвергается всего 2–5% от общего содержания ФЛ в мембранах [23]. В конечном итоге чрезмерная активация ПОЛ может привести к цитолизу.

Кроме того, при стимуляции ПОЛ спектр ФЛ клеточных мембран изменяется таким образом, что они обогащаются фосфатидилхолином (ФХ) и сфингомиелином (СФМ), которые являются наиболее устойчивыми к окислению. И, наоборот, при усилении антиокислительной активности липидов в мембранах увеличивается содержание легко окисляемых фракций – фосфатидилэтаноламина (ФЭА), фосфатидилсерина (ФС) и фосфатидилинозита. При усилении ПОЛ липиды мембран содержат больший процент насыщенных жирных кислот, чем в норме. Изменяется соотношение между количеством ХС и ФЛ, так как при усилении ПОЛ относительное содержание ФЛ уменьшается, а ХС – увеличивается.

Маркеры оксидативного стресса. Прямое определение уровня оксидантов в условиях *in vivo* практически невозможно, так как это чрезвычайно реакционноспособные и, следовательно, короткоживущие соединения. С другой стороны, модифицированные АФК липиды, углеводы, белки и нуклеиновые кислоты имеют продолжительность жизни от нескольких часов до нескольких недель, что делает их идеальными маркерами ОКСТР. В табл. 1 представлены основные маркеры ОКСТР и их классификация.

Классическим маркером ОКСТР в отношении липидов в плазме крови считается уровень МДА – конечного продукта большей части реакций, приводящих к окислению поли-НеЖК (линолевая, линоленовая) и являющегося надежным маркером ОКСТР [24]. Однако в последнее время, как видно из таблицы, арсенал маркеров стал значительно шире.

АФК, взаимодействуя с арахидоновой кислотой, превращают ее в модифицированный фрагмент

Маркеры оксидативного стресса и антиоксиданты
(по Locatelli F. и соавт. [2])

Таблица 1

Маркеры оксидативного стресса	Антиоксиданты
Перекисное окисление липидов Акролеин Малоновый диальдегид 4-гидроксиноненал Вещества, взаимодействующие с тиобарбитуровой кислотой F ₂ -изопростаны Продукты избыточного окисления липидов Антитела к окисленным ЛПНП	Антиоксиданты ферментной природы Супероксиддисмутаза Каталаза Глутатион-пероксидаза Антиоксиданты неферментной природы Глутатион Витамин Е Витамин С Ферритин Трансферрин Альбумин и т.д.
Окисление белков Продукты избыточного окисления белков	
Окисление углеводов Конечные продукты избыточного гликирования	
Окисление нуклеиновых кислот 8-гидрокси-2'-дезоксигуанозин	

рикеточного сигнала. Изопростаны, в свою очередь, также являются цитотоксическими соединениями и способны вызывать повреждение клетки: могут запускать синтез IL-1 β , TNF- α и вызывать активацию АФК (NO и ONOO⁻) с образованием n-алкеналей, 2-алкеналей, 2,4-алкандиенов, алкантриенов, гидропероксиалкенов – продуктов ПОЛ. Данные продукты являются геномо- и цитоток-

ФЛ — структуру, похожую на ПГ. Затем образуются этерифицированные F₂-изопростаны, высвобождаемые ФЛ-азой А из ФЛ матрицы. Данные продукты по химической структуре напоминают ПГ, однако они не обладают их пространственной изомерией и не способны при связывании с рецепторами вызывать нормальную трансдукцию внут-

сичными. Так, гидропероксиды липидов нарушают регулярную упаковку мембранного бислоя и вызывают образование в мембране дефектных зон, гидроксиноненали обладают способностью образовывать аддукты с ФЛ, белками и нуклеиновыми кислотами, приводя к их повреждению.

Поэтому для оценки окисления липидов используют определение концентраций

стабильных продуктов деградации перекисей липидов – альдегидов (акролеин, МДА, 4-гидроксиноненаль и продукты взаимодействия с тиобарбитуровой кислотой), F₂-изопростанов (первичных продуктов окисления арахидоновой кислоты в результате свободно-радикальной атаки на ФЛ мембран или циркулирующие липопротеиды низкой плотности – ЛПНП), специфических антител к окисленным ЛПНП, а также других конечных продуктов избыточного окисления липидов [25].

Между карбонильными производными, образовавшимися при окислении НсЖК (в первую очередь МДА, а также другими альдегидами и кетонами), и аминокислотами и их эфирами, белками, нуклеиновыми кислотами, ФЭА, фосфатидилфенилаланином формируются ковалентные межмолекулярные сшивки. При этом синтезируются ненасыщенные вещества, содержащие 1-амино-

Активные формы кислорода

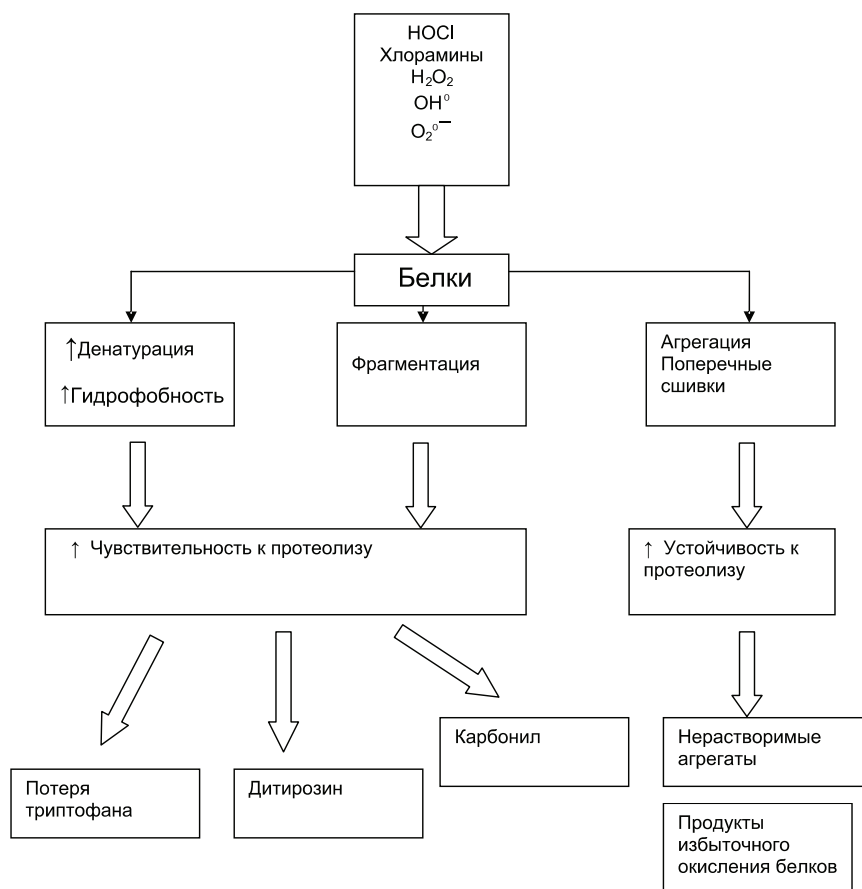


Рис. 4. Схема путей, приводящих к окислительной модификации белков (по Descamps-Latscha B. и соавт. [8]).

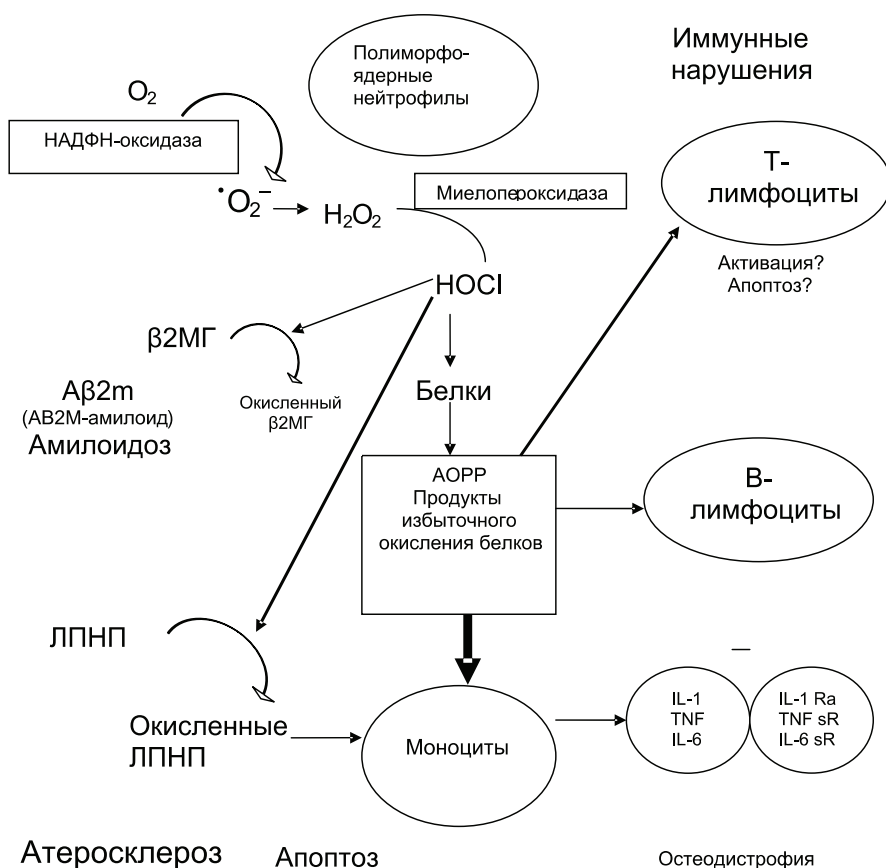


Рис 5. Продукты избыточного окисления белков (АОПП) – медиаторы между нейтрофилами и моноцитами и осложнениями, связанными с оксидативным стрессом, при лечении диализом (по V. Witko-Sarsat и соавт. [22])

3-имино-группировку, общего строения типа $R-N=CH-CH=CH-NH-R$, так называемые основания Шиффа (ШО), которые также можно расценивать как конечные продукты ПОЛ.

Окисление белков может приводить к нарушению или модификации их функций. Окислению подвергаются сульфо- и амингидрильные группы аминокислот. Особая роль в окислительной деструкции белков принадлежит NO-радикалу, пероксинитриду. В результате «атаки» АФК белковых молекул может происходить их фрагментация и увеличение чувствительности к протеолизу, образуются производные аминокислот – орто-тирозин, 6-нитротриптофан, 3-нитротирозин, 3-хлортирозин, 2-оксогистидин, а также разнообразные карбонильные производные. С другой стороны, взаимодействие белка с МДА, образующимся при ПОЛ, приводит к образованию поперечных сшивок между белками или между белком и другой молекулой, содержащей NH_2 группу. Сшивки могут также образоваться между двумя остатками тирозина (что ведет к образованию дитирозина) или за счет образования дисульфидных связей. Очень важно, что продукты окисления белков могут стимулировать «респираторный взрыв» в моноцитах [22], следовательно, выступать как медиаторы воспаления.

В настоящее время считается, что конечные продукты окисления белков образуются главным образом под воздействием хлор-содержащих окислителей (рис. 4, 5).

Аналогично происходит взаимодействие белков с кетоальдегидами, образующимися при окислении сахаров. Помимо этого, альдегидная группа сахара способна непосредственно взаимодействовать с аминогруппой белковой молекулы, что в дальнейшем приводит к накоплению гликированных продуктов (конечные продукты избыточного гликирования – КПИГ) [15,26]. Основным источником карбонильной группы в реакции гликирования в условиях *in vivo* являются глюкоза и другие карбонильные соединения (глицеральдегид, глиоксаль, гликоальдегид, метолглиоксаль и некоторые другие метаболиты глюкозы

[27]. Важно отметить, что гликирование белков обычно осуществляется в результате прямого взаимодействия восстанавливающих сахаров с аминогруппами лизина, причем гликируются радикалы лизина, соединенные с пролином. В результате образуются ШО, которые при перегруппировке превращаются в стабильные соединения – продукты Амандори и КПИГ [24, 27]. В физиологических условиях накопление КПИГ происходит при старении, а при патологии – в условиях их избыточного образования (сахарный диабет) и в условиях снижения экскреции КПИГ почками и их предшественников.

КПИГ обладают биологической активностью в отношении клеток эндотелия. Например, модифицированный альбумин обладает способностью усиливать апоптоз эндотелиальных клеток [28], кроме того, КПИГ вызывают ангиогенез и тромбогенез [27]. В целом роль КПИГ состоит в прямом действии – захватывании макромолекул, и в опосредованном – биологических эффектах через взаимодействие с рецепторами клеточной поверхности [29]. Взаимодействие с этими рецепторами имеет двойной эффект. С одной стороны, оно приводит к активации клеток, результатом которой является регулируемое ремоделирование тканей. С другой сто-

роны, это механизм удаления необратимо гликированных молекул, что представляет собой основной путь защиты тканей от повреждения КПИГ [29].

Наконец, важно отметить, что конечные продукты окисления белков – продукты агрегации – чрезвычайно устойчивы к протеолизу [22,30].

Кроме того, окислители могут взаимодействовать с нуклеиновыми кислотами (НК) и усугублять мутагенез и онкогенез. АФК при взаимодействии с НК способны модифицировать основания, дезоксирибозы, а также образовывать новые ковалентные связи. АФК атакуют основания НК по различным фрагментам их молекул: пиримидины подвергаются окислению в положении С5–С6. При взаимодействии АФК с тимином образуются изомеры 5,6-дигидротимина, которые распадаются в щелочной среде. Цитозин при взаимодействии с АФК и гидроперекисями образует цитозин, гидроксильированный в положении С5–С6, а также может раскрывать двойные связи. Атака АФК на пурины приводит к разрыву имидазольного кольца фрагмента молекулы с образованием формамидпиридиновых остатков.

Для оценки окислительного повреждения нуклеиновых кислот используют определение 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина (8-ГДГ) [2,8]. Его образование происходит постоянно, однако значительно возрастает при различных патологических состояниях, и 8-ГДГ может рассматриваться как маркер окислительного стресса, а методика его определения в моче – как неинвазивный метод оценки уровня окислительного стресса [25].

Под действием АФК может происходить дезаминирование гуанина и аденина, что приводит к появлению ксантина и гипоксантина в составе ДНК, обладающих мутагенным действием. Чувствительность оснований к АФК зависит от окружения. Так, в составе ДНК наиболее чувствительным является тимин. Последствия разного рода окислительных повреждений неодинаковы. Тиминовые гликоли и формамидпиримидины блокируют репликацию, а также цитотоксичны. Однако их мутагенный потенциал ограничен. Наиболее мутагенным является 8-ГДГ, и если он присутствует в матрице ДНК, то все репликативные ДНК-полимеразы выстраивают против него d-AMP и осуществляют замену: «цистеин–гуанин» на «тимин–аденин». Помимо этого, АФК могут осуществлять непосредственно разрыв ДНК по сахаро-фосфатной связи.

Кроме того, АФК способны вызывать и не прямое повреждение НК. Так, они вызывают высвобождение Ca^{2+} из митохондрий, что впоследствии приводит к повышению активности нуклеаз. Особое место в повреждении ДНК занимает NO, ко-

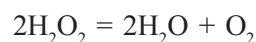
торый через дезаминирование НК активирует НАД-зависимую поли-(АДР-рибозо)полимеразу, которая катализирует присоединение АДР-рибозы к белкам-гистонам и ДНК. Аберрация ДНК может активировать апоптоз [25].

Система антиоксидантной защиты организма

Общая характеристика системы антиоксидантной защиты. Как уже указывалось, СРО свойственно нормально метаболизирующей клетке. Действию системы СРО противостоит мощная многокомпонентная антиоксидантная система (АОС) [4,12]. Она выполняет защитную функцию, надежно ограничивая СРО на всех его этапах, начиная от стадии образования АФК. К компонентам АОС относятся: акцепторы электронов – витамины E и K₃; акцепторы $\cdot O_2^-$ – метионин, цистеин; ловушки $OH\cdot$ – алифатические спирты, а также факторы обезвреживания токсических продуктов СРО – токоферол (ТФ), ионол, СОД, каталаза (КАТ), глутатионпероксидаза (ГПО), хелаторы металлов переменной валентности. К факторам антиоксидантной (АО) защиты следует также отнести нормальный (достаточный) уровень липидных компонентов мембран, строго определенный спектр мембранных составляющих, а также их упорядоченную организацию, что препятствует хаотропному эффекту. Таким образом, система АОЗ не позволяет реакциям СРО выйти из-под контроля, однако следует помнить, что ослабление любого звена АОС, будучи ничем не компенсировано, активирует СРО.

В соответствии с современной классификацией все вещества с антиоксидантными свойствами можно разделить на компоненты ферментной и неферментной природы (табл. 2).

Антиоксиданты ферментной природы – каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза. Каталаза (КАТ) (КФ 1.11.1.6) – это гемопrotein, содержащий 4 гемовые группы. In vivo КАТ разлагает перекись водорода, образующуюся при действии аэробных дегидрогеназ:



Каталаза имеется в крови, костном мозге, мембранах слизистых оболочек, почках и печени. Во многих тканях, включая печень, обнаружены микротельца, пероксисомы, которые богаты аэробными дегидрогеназами и КАТ. К ферментам, обеспечивающим образование перекиси водорода, помимо пероксисомальных ферментов, относятся также митохондриальные и микросомные системы транспорта электронов [30].

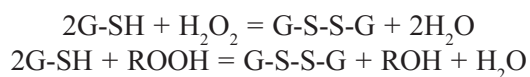
Супероксиддисмутаза (СОД) (КФ 1.15.1.1) обезвреживает супероксиданион путем его дисмутации и превращения в перекись водорода и триплетный кислород, не нуждаясь ни в каких кофакторах, и является первой линией ферментативной анти-оксидантной защиты:



Супероксиданион, как уже указывалось, инициирует ПОЛ в мембранах, повреждает ДНК, окисляет восстановленные тиоловые группы (T-SHгр.) белков, инактивирует ферменты, деполимеризует полисахариды и т.д. Поэтому СОД защищает аэробные организмы от повреждающего действия супероксида. Фермент можно обнаружить в нескольких внутриклеточных компартаментах.

Цитозольный фермент состоит из двух сходных субъединиц, содержащих по одному иону Cu^{+2} и Zn^{+2} . Митохондриальный фермент, обнаруженный у бактерий, содержит ион Mn^{+2} . СОД присутствует во всех основных тканях аэробов [22, 32, 36 - 2,8,31].

Глутатионпероксидаза (ГПО) (КФ 1.11.1.9) – фермент, имеющий в активном центре селен, локализован главным образом в эритроцитах. ГПО катализирует реакцию разложения перекиси водорода или гидроперекиси НеЖК с помощью восстановленного глутатиона, тем самым защищая липиды мембран и гемоглобин от окисления перекисями, обеспечивая целостность органелл и препятствуя тем самым развитию патологических состояний при действии физических, химических или других стрессорных факторов [31]:



Деятельность ГПО неразрывно связана с работой другого фермента – глутатион-редуктазы, которая катализирует реакцию восстановления окисленного глутатиона с помощью восстановленного НАДФ, образующегося в ходе пентозофосфатного пути обмена глюкозы:



Таблица 2

Величины показателей системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты крови больных хроническим гломерулонефритом с сохранной функцией почек по мере прогрессирования основного заболевания (X ± m)

Показатель	Больные хроническим гломерулонефритом с сохранной функцией почек					
	Доноры	ремиссия	ИМС	МС + ВАГ	НС	НС + ВАГ
ДК пл., Δ Е/мл	1,91 ± 0,07 (114)	2,28 ± 0,73 (9)	2,10 ± 0,29 (33)	2,78 ± 0,40* (40)	3,07 ± 0,34* (23)	3,23 ± 0,33* (32)
МДА пл., нмоль/мл	3,36 ± 0,15 (97)	3,30 ± 0,63 (7)	3,31 ± 0,33 (33)	3,37 ± 0,21 (40)	2,50 ± 0,26* (24)	3,53 ± 0,34 (32)
ТФ пл., мкмоль/мл	0,259 ± 0,008 (82)	0,282 ± 0,026 (9)	0,266 ± 0,013 (33)	0,258 ± 0,013 (40)	0,278 ± 0,021 (24)	0,266 ± 0,018 (32)
T-SHгр. пл., мкмоль/мл	0,772 ± 0,023 (66)	0,576 ± 0,064* (9)	0,545 ± 0,028* (30)	0,536 ± 0,029* (34)	0,486 ± 0,059* (16)	0,384 ± 0,038* (25)
ОБ пл., г/л	65,68 ± 1,37 (111)	57,08 ± 5,35 (7)	58,88 ± 2,42* (29)	68,70 ± 1,93 (38)	58,12 ± 3,78* (23)	56,89 ± 2,53* (31)
ОЛ пл., г/л	4,54 ± 0,13 (117)	4,93 ± 0,47 (9)	5,15 ± 0,41 (33)	5,85 ± 0,48* (40)	8,80 ± 0,62* (24)	8,45 ± 0,80* (32)
АОК пл., ед.	1,07 ± 0,05 (59)	1,00 ± 0,15 (7)	1,08 ± 0,09 (30)	0,822 ± 0,065* (33)	0,769 ± 0,109* (14)	0,687 ± 0,089* (25)
ГПЛ эр., мкмоль/ мг ОЛ	0,359 ± 0,031 (26)	–	0,448 ± 0,042 (11)	0,452 ± 0,041 (10)	0,461 ± 0,053 (7)	0,346 ± 0,018 (3)
МДА эр., нмоль/ мг ОЛ	22,92 ± 1,24 (68)	33,41 ± 5,17* (9)	31,53 ± 2,73* (33)	31,17 ± 3,62* (39)	25,71 ± 4,29 (18)	31,26 ± 3,33* (30)
ТФ эр., мкмоль/ мг ОЛ	2,15 ± 0,13 (77)	1,93 ± 0,22 (9)	1,92 ± 0,13 (33)	1,98 ± 0,12 (39)	1,95 ± 0,20 (18)	2,04 ± 0,17 (31)
TSHгр. эр., мкмоль/мл	2,24 ± 0,09 (67)	1,94 ± 0,27 (9)	2,20 ± 0,19 (28)	2,39 ± 0,17 (30)	2,62 ± 0,29 (15)	2,16 ± 0,19 (22)
NP-SH гр. эр., мкмоль/мл	0,156 ± 0,005 (60)	0,160 ± 0,013 (8)	0,156 ± 0,010 (29)	0,156 ± 0,009 (30)	0,167 ± 0,021 (14)	0,133 ± 0,007* (21)
ОБ эр., г/л	36,21 ± 1,01 (101)	35,67 ± 2,07 (9)	37,27 ± 1,86 (32)	39,27 ± 1,32 (39)	37,48 ± 1,79 (23)	31,39 ± 1,86* (31)
ОЛ эр., г/л	0,516 ± 0,019 (89)	0,498 ± 0,044 (9)	0,526 ± 0,030 (33)	0,545 ± 0,024 (39)	0,599 ± 0,047 (18)	0,530 ± 0,036 (31)
АОК эр., ед.	3,54 ± 0,25 (53)	1,72 ± 0,20* (8)	1,81 ± 0,12* (26)	2,02 ± 0,19* (28)	2,40 ± 0,19* (13)	1,88 ± 0,15* (21)
ОПА кр., мкмоль/мин·х г Нб	2,09 ± 0,11 (21)	1,00 ± 0,15* (3)	1,41 ± 0,14* (14)	1,21 ± 0,11* (15)	1,41 ± 0,18* (10)	1,71 ± 0,35 (6)
КАТ, Кмоль / час · х л	1,06 ± 0,05 (20)	–	1,02 ± 0,13 (10)	1,01 ± 0,06 (14)	0,85 ± 0,08* (11)	1,01 ± 0,14 (8)

Примечание. * – результаты статистически достоверно отличаются от данных доноров. В скобках указано число обследованных лиц. Прочерк означает отсутствие данных. ИМС – изолированный мочевого синдрома. МС – мочевого синдрома. ВАГ – вторичная артериальная гипертензия. НС – нефротический синдром. АОКпл. = (ДФл. + Т-SHпл.) / (ДКпл. + МДАпл.) АОКэр. = (ТФэр. + Т-SHэр.) / МДАэр., где все величины показателей выражены в процентах по отношению к величинам у доноров.

Токоферол – основной жирорастворимый антиоксидант организма. ТФ, или витамин Е, является по сути дела единственным и самым мощным липидорастворимым антиоксидантом, как в плазме, так и в любой клеточной мембране. Общепринято, что действие ТФ сводится к следующим механизмам:

1). Защита от избыточного ПОЛ за счет очень высокой антирадикальной активности. Подобно другим фенольным производным, ТФ взаимодействует с радикалами как донор водорода и ловушка электронов, а его углеводородный «хвост» является каналом удаления радикалов из углеводородной зоны мембран [32].

2). Стабилизация липидного состава и физического состояния бислоя (фактор структурной стабилизации мембран) [32].

3). Защита от деструкции, вызванной продуктами гидролиза ФЛ под действием ФЛ-азы A_2 : ФЛ-аза деполяризует мембрану, снижает ее микровязкость и увеличивает ее отрицательный поверхностный потенциал за счет образования свободных жирных кислот и фосфатидной кислоты, в то время как ТФ связывает продукты гидролиза ФЛ и уменьшает хаотропный эффект [33]. Кроме того, ТФ повышает микровязкость мембран, тем самым, снижая пассивную проницаемость для ионов.

4). Блокирование повреждающего действия синглетного кислорода и других активных форм кислорода [33].

Кроме того, установлено, что ТФ участвует в синтезе гемоглобина, в процессе эритропоэза, увеличивает время жизни красных кровяных клеток, способствует их функциональной полноценности и биосинтезу внутриклеточных предшественников глутатиона, а также способствует поддержанию активности глутатионредуктазы.

Показано, что ТФ способен уменьшать концентрацию АДМА [34] тем самым, способствуя достаточной продукции оксида азота.

При недостатке ТФ может произойти разобщение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования, уменьшается поглощение кислорода, концентрация убихинона, содержание ферментов дыхательной цепи.

Имеются данные о том, что около 20% ТФ в плазме переносится с фракцией липопротеидов (ЛП) низкой плотности (ЛПНП), а еще 50% – фракцией ЛП высокой плотности (ЛПВП), что определяет АО свойства последней [35]. Между ЛПВП и ЛПНП происходит обмен ТФ. Кроме того, доказано, что существует обмен ТФ между плазмой и эритроцитами: этот обмен занимает 84-86

часов и находится в зависимости от уровней гематокрита и общей концентрации липидов в плазме [36].

Концентрация ТФ в плазме тесно связана с концентрацией липидов в ней (в частности, с уровнями триглицеридов – ТГ – и ХС). Установлено, что чем выше содержание в крови ТФ, тем чаще это сочетается с гиперлипидемиями.

АО свойства ТФ в большой степени зависят от уровней других витаминов с АО свойствами – аскорбиновой кислоты и витамина А [32]. При недостатке одного компонента система дополняется активностью другого. В свою очередь, избыточное поступление одного АО вещества за счет антагонизма с другими компонентами не приводит к избыточному торможению ПОЛ, обеспечивая АО гомеостаз организма.

Подытоживая все вышесказанное, следует остановиться на химическом механизме, который лежит в основе всех вышеперечисленных АО свойств ТФ. Витамин Е встраивается в биологические мембраны и структурирует их подобно ХС. Однако, в отличие от последнего, ТФ преимущественно включается в участки с наибольшим содержанием НеЖК (в частности, со стороны цитоплазмы и во внутренней мембране митохондрий). Гидрофильное кольцо обращено к поверхности мембраны, а гидрофобный «хвост» – внутрь мембраны, обеспечивая максимальное физическое взаимодействие с НеЖК, в первую очередь с длиной углеводородного радикала 16-20 атомов, то есть сопоставимую с длиной углеводородного «фитиля» ТФ. Следует помнить, что это не просто «заполнение пустот», а специфическое межмолекулярное взаимодействие. Одна молекула ТФ реагирует больше, чем с одной молекулой ФЛ, так как боковые метильные радикалы размещаются в карманах, где имеется цис-двойная связь НеЖК. Именно такая локализация молекулы ТФ в биомембранах и частицах ФЛ обеспечивает антиоксидантные свойства витамина Е и его способность быть стабилизатором мембран [37].

Антиоксиданты, содержащиеся в своей структуре восстановленную сульфгидрильную группу или нуждающиеся в восстановленном тиоле для проявления биологической активности. Приведенное выше простое перечисление функциональных компонентов АОС показывает, что их можно подразделить на группу липидорастворимых и водорастворимых компонентов. В составе второй группы ключевое место принадлежит веществам, содержащим восстановленную сульфгидрильную группу (SH-группу), или нуждающихся в присутствии тиолов для проявления активности. Так, в состав

неферментативного звена АОС входят низкомолекулярные тиолы (восстановленный глутатион) и тиолсодержащие белки, которые, по некоторым данным, даже более реактивны по отношению к свободным радикалам, чем восстановленный глутатион (к такого рода белкам относится, например, альбумин) [38]. С другой стороны, ферменты, принимающие участие в противоокислительной защите, либо являются собственно тиоловыми энзимами, либо нуждаются в присутствии тиолов (СОД, КАТ, ГПО). О механизме их действия речь шла выше.

Исключительно высокая реакционная способность тиол-содержащих соединений делает возможным их участие в самых разнообразных химических превращениях, но самую важную в биологическом смысле роль играют окислительно-восстановительные реакции, в ходе которых тиоловые группы легко окисляются с образованием, как правило, дисульфидных группировок, и вновь регенерируют при их восстановительном расщеплении:



Следует помнить, что восстановленные тиолы обладают высокой АО активностью, они имеют как антирадикальные, так и антиперекисные свойства, и способны защищать от повреждения ферменты и НК, липиды и другие биологически активные соединения.

Ключевое место среди тиоловых антиоксидантов небелковой природы занимает трипептид глутатион, участвующий в обезвреживании различных АФК (перекись водорода, гидроксильный радикал, оксиданты, содержащие хлор). Особое значение это вещество играет в жизнедеятельности эритроцитов и лимфоцитов, обеспечивая в первом случае – защиту от окисления гемоглобина, а во втором – пролиферацию, продукцию иммуноглобулинов и синтез цитокинов [8].

Следует отметить, что тиоловое звено системы АОЗ занимает особое место: между суммарной АО активностью и уровнем восстановленных тиолов нет линейной зависимости, индивидуальный уровень тиолов более стабилен, нежели общая АО активность. Это говорит о том, что в приспособительных реакциях организма участвуют два фланга АОЗ, но отражают они разные стороны клеточного метаболизма.

Другие вещества-антиоксиданты неферментативной природы. Аскорбиновая кислота (витамин С) широко представлена как во внутриклеточном, так и во внеклеточном пространстве. Ви-

тамин С удаляет супероксиданион и гидроксильный радикал путем образования дегидроаскорбиновой кислоты, дальнейший метаболизм которой осуществляется с помощью глутатиона. Цистеин, таурин и метионин участвуют в обезвреживании гипохлорной кислоты и хлораминов. Мочевая кислота, глюкоза, билирубин и маннитол также имеют АО свойства.

Антиоксидантные свойства белков плазмы крови. Говоря о факторах системы АОЗ, нельзя не затронуть вопрос об АО свойствах плазменных белков. Белки плазмы крови могут инактивировать АФК, а также связывать ионы переменной валентности, инициирующие образование АФК [8], что позволило даже сформулировать представление об «антиоксидантной белковой буферной системе», оказывающей в первую очередь защиту на уровне эритроцитов, предотвращая их гемолиз в результате активации ПОЛ.

Проблема заключается в том, что во внеклеточной среде активность АО защитных ферментов (ГПО, КАТ, СОД) мала, но, тем не менее, плазма обладает мощным АО потенциалом, который проявляют альбумин, иммуноглобулины, церулоплазмин, фракции α_2 - и β -глобулинов и, в меньшей степени, трансферрин, ферритин, гаптоглобин и сывороточная СОД. В предельно низких концентрациях эти белки практически не влияют на скорость протекания реакций ПОЛ, но в средних концентрациях, которые, однако, не достигают физиологических, они добиваются полной защиты эритроцитов и легко окисляемых компонентов плазмы от окисления, проявляя при этом выраженный кооперативный эффект [39].

Ключевое место среди белков плазмы принадлежит альбумину, который несет основную АО функцию в плазме крови [40]. Этот белок, кроме выполнения роли основного осмотического компонента плазмы, выполняет транспортную функцию, способен ассоциировать с самыми разными лигандами и влиять на перенос их через мембраны. Среди веществ, транспортируемых альбумином, ведущее место принадлежит билирубину, ионам кальция, различным лекарственным препаратам и, конечно же, жирным кислотам, для которых в молекуле альбумина имеются специфические независимые центры с высокой избирательностью и недоступные для других лигандов. Обратимое связывание альбумином и другими белками крови биологически активных веществ очень тесно связано с нативным состоянием восстановленных тиоловых и дисульфидных группировок на поверхности молекул белка и в центрах связывания.

Связывая жирные кислоты, в первую очередь НеЖК, альбумин предохраняет их от перекисидации. С другой стороны, альбумин способен связывать и тем самым инактивировать продукты их окисления, таким образом защищая клеточные структуры от повреждающего действия продуктов ПОЛ при патологии.

Кроме связывания НеЖК, альбумин обладает способностью связывать лизо-ФХ, высвобождающийся из фракции ЛПНП при их окислении и вызывающий вазоконстрикцию [41], тем самым защищая организм от негативного эффекта активации ФЛ-аз в ходе ОКСТР.

Однако, говоря о защитных свойствах альбумина плазмы у больных с заболеваниями почек, следует помнить, что в условиях уремии связывающая способность альбумина резко уменьшается из-за того, что центры связывания прочно заблокированы (по механизму конкурентного ингибирования) эндогенными токсинами [42].

Кроме того, следует помнить, что при чрезмерной активации ПОЛ окислительной модификации подвергаются также и белковые компоненты АОС, что приводит к потере ими АО свойств [40].

Таким образом, оксидативный (окислительный) стресс можно определить как состояние, при котором происходит смещение равновесия между образованием АФК и потенциалом системы АОЗ в сторону прооксидантных процессов. Смещение баланса в пользу стимуляции реакций окисления приводит, в конечном итоге, к повреждению клеток и тканей [8].

Роль окислительного стресса в патогенезе хронической болезни почек

Как уже указывалось, ОКСТР является важным патогенетическим звеном развития самых разных состояний и болезней. К ним относятся – злокачественный рост и атеросклероз, стресс и радиационное поражение, воспалительные реакции и физическая нагрузка, многообразие состояний, связанных с мембранодеструкцией, а также – хроническая болезнь почек (ХБП). Накопленный опыт, основанный на изучении соотношения АО и прооксидантных параметров в случае развития различных болезней, позволил ученым выработать представление о так называемом «антиоксидантном статусе» и использовать критерии последнего в оценке тяжести патологического процесса [12].

ХБП в настоящее время превратилась во всем мире не только в медицинскую проблему, но и проблему здравоохранения в целом. К сожалению, она начинает принимать эпидемические масштабы. В основе ХБП лежит широкий спектр нарушений

(включая диабет, артериальную гипертензию, гломерулонефрит) и считается, что ХБП страдает около 10% населения планеты. В свою очередь, ХБП – это независимый фактор риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, а последние, в свою очередь, являются причиной смертности у пациентов с ХБП в 10–20 раз чаще, чем в популяции в целом [24,43].

ХБП часто связана с мембранодеструктивными процессами, приводящими к значительным изменениям структурно-функциональной организации почечных мембран гистоморфологических структур почек. Этот вывод находит подтверждение в многочисленных экспериментах на животных: при моделировании гломерулярных поражений почек выявлена стимуляция ПОЛ в почечной ткани и показан защитный эффект при введении препаратов антиоксидантного действия [12]. Установлено, что и у человека в процессе прогрессирования хронического гломерулонефрита (ХГН) имеет место срыв и несовершенство физиологически-адаптационных механизмов поддержания стационарного уровня содержания ФЛ в мембранах клубочков, что проявляется уменьшением содержания суммарного уровня ФЛ, а также отдельных классов ФЛ – ФС, ФЭА, а в дальнейшем – ФХ и СФМ, и увеличением доли стеринов. Снижение ФЛ, в свою очередь, связано с активацией эндогенных ФЛ-аз, что проявляется выраженным накоплением лизо-форм ФЛ [44]. Эти ферменты наиболее активны в отношении ФЛ, у которых жирно-кислотные радикалы находятся в аутоокисленном состоянии, т.е. в форме ГПЛ. Следовательно, первичным звеном в изменении ФЛ спектра мембран являются реакции СРО.

Помимо поражения самой базальной мембраны, при ХГН и особенно при нефротическом синдроме (НС) поражаются мембраны эпителия и лизосом канальцевого аппарата, что сопровождается повышением активности в моче ряда ферментов-маркеров лизосом.

Таким образом, существует достаточное количество доказательств важной роли мембранолитических процессов в генезе заболеваний почек, в первую очередь, при ХГН. Кроме того, не подвергается сомнению тот факт, что важное значение имеет избыточное образование эндогенных свободных радикалов [18]. Следует также помнить и о прямом повреждающем воздействии высоких концентраций липидов на структурно-функциональную организацию мембран почечной ткани за счет отложения липидов (в первую очередь, окисленных) в гломерулах [45].

Кроме того, общепризнано, что у больных ХГН

отмечаются существенные сдвиги в метаболизме липидов, приводящие к быстрому возникновению и развитию атеросклеротических процессов (увеличение концентрации ХС, β -липопротеидов, общих липидов, ТГ, насыщенных жирных кислот, уменьшение доли НсЖК, падение активности липопротеидлипазы – ЛПЛ и триглицеридлипазы – ТГЛ) [46]. Роль СРО как одного из основных инициаторов в развитии атеросклероза хорошо известна и общепризнана [47]. Увеличение продукции супероксиданиона инактивирует оксид азота и уменьшает ее биодоступность, тем самым вызывая эндотелиальную дисфункцию. С другой стороны супероксиданион может вызывать инактивацию кофактора NO-синтазы тетрагидробиоптерина, приводя к разобщению фермента и снижению продукции NO. Кроме того, продукт взаимодействия NO и $\cdot\text{O}_2^-$ – пероксинитрит – является сильным окислителем в отношении белков, липидов, нуклеиновых кислот, вызывая повреждение клеток сосудов. Супероксиданион также способствует окислительной модификации ЛПНП, играющих ключевую роль в формировании атеросклеротического повреждения. В опубликованных результатах исследований показано также, что НАДФ-оксидаза вовлечена в развитие экспериментального атеросклероза. НАДФ-оксидаза, присутствующая в фагоцитах, инфильтрирующих сосудистую стенку, вносит вклад в развитие атеросклеротического поражения у человека. Снижение активности СОД важно в развертывании эндотелиальной дисфункции у пациентов с поражением коронарных сосудов [9].

В последние годы появилась серия исследований, доказывающих роль оксида азота (как одного из АФК, образующихся в ходе СРО) в патогенезе ХБП. Активное участие оксида азота показано как в модельных экспериментах на животных, изолированной почке и клеточных элементах, так и на примере больных детей.

Процессы СРО являются ключевыми при синтезе ПГ (в первую очередь, ПГЕ₂), так как реакции СРО лежат в основе функционирования циклооксигеназной системы. Избыточная концентрация ПГЕ отрицательно сказывается на ряде физиологических показателей: ПГЕ₁ обладают ингибирующим влиянием на иммунный ответ, ПГЕ₂ стимулируют агрегацию тромбоцитов. Однако на фоне ХГН преобладает липоксигеназный путь метаболизма арахидоновой кислоты, следовательно, синтез ПГ снижен, а тромбоксана – повышен [48]. Но, помимо перечисленных свойств ПГ, они обладают также депрессорным, натрийуретическим и диуретическим эффектом, а также способностью

увеличивать почечный кровоток и, следовательно, участвовать в развитии нефрогенной гипертензии [48].

Следует отметить, что стимуляция СРО и образование АФК происходит и в корковом, и в мозговом веществе почек и совершенно независимо друг от друга могут вызывать гипертензию. В экспериментальных работах показано, что ОКСТР может быть стимулирован в коре и в мозговом веществе как порознь, так и одновременно [49]. Супероксиданион запускает ОКСТР во всех отделах почек, в то время как перекись водорода – имеет исключительное значение в мозговом веществе. В то же время перекись водорода в коре стимулирует вазодилатацию афферентных артериол. Таким образом, можно говорить о сложном влиянии АФК в разных отделах почки.

Цепь нарушений, связанных с развитием ОКСТР, наиболее ярко прослеживается при ХГН. На фоне ХГН, который, в первую очередь, является иммунной нефропатией, мембранные образования клубочка подвергаются повреждающему воздействию иммунных комплексов и антител к базальной мембране при участии активированной системы комплемента, макрофагов, нейтрофилов и мезангиальных клеток. Клетки начинают интенсивно вырабатывать АФК, происходит стимуляция ПОЛ, экзогенных ФЛ-аз и протеаз. Высокая и пролонгированная активность ФЛ-аз и ПОЛ, модификация липидной фазы клеточной мембраны нефрона на фоне несостоятельности АОС может быть существенным фактором, определяющим тяжесть и исход заболевания почек. Максимальная выраженность пероксидации наблюдается в период обострения ХГН. Найденное нарушение равновесия прооксидантных и АО систем со сдвигом в сторону активации СРО липидов, уменьшение активности АО ферментов и истощение неферментативного звена приводит к структурной перестройке мембран, в том числе и почечного фильтра, и изменению их физического состояния (микровязкости, текучести, стереохимической ориентации), неблагоприятным условиям для функционирования мембраносвязанных липидзависимых ферментов (например, транспортных АТФ-аз), проницаемости мембран и взаимодействию с гормонами.

Гипоальбуминемия, развивающаяся как результат увеличения проницаемости почечного фильтра, сопровождается эндотелиальной дисфункцией и напрямую влияет на смертность у больных с ХБП и на смертность от сердечно-сосудистых осложнений у пациентов на гемодиализе (ГД) [50].

Увеличение концентрации МДА в плазме вы-

явлено у пациентов с нарушением функции почек в сочетании с документированной сердечно-сосудистой патологией, включая инфаркт миокарда, стенокардию, транзиторное нарушение мозгового кровообращения и периферическую ангиопатию. Показано также, что уровень МДА высоко коррелирует со степенью кальцификации коронарных артерий [24], а в условиях *in vitro* стимуляция ОКСТР усиливает остеобластическую дифференциацию клеток сосудов, что может объяснить кальцификацию сосудов у больных на ГД.

У больных, получающих лечение ГД, отмечены выраженные признаки ОКСТР: контакт крови с искусственной диализной мембраной в ходе процедуры ГД приводит к образованию большого количества АФК лейкоцитами. Кроме того, на фоне ГД равновесие между процессами, ведущими к образованию оксидантов, и АО активностью смещается в сторону первых [22,51]. Дополнительным доказательством этого служит обнаружение в крови больных на ГД антител к окислительно-модифицированным ЛПНП [1], причем титр последних является независимым предиктором смертности и выживаемости в популяции данных больных [51]. У таких пациентов имеется выраженный дефицит витаминов С и Е [51,52]. В последнее время практически не подвергается сомнению тот факт, что ОКСТР и его последствия, а также воспаление являются одними из ведущих факторов развития атеросклероза, сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности у пациентов с уремией [51].

В настоящее время считается, что ОКСТР обязательно сочетается с воспалением и приводит к развитию гипертензии [53]. Так, множественный регрессионный анализ показал тесную взаимосвязь между средним артериальным давлением и выраженностью ОКСТР в полиморфоядерных лейкоцитах человека, а эндотелий-зависимая ацетилхолин индуцируемая вазодилатация была значительно снижена у пациентов с эссенциальной гипертензией. Это доказывает, что АФК и вазоконстрикция играют важную роль у пациентов с эссенциальной гипертензией из-за имеющейся эндотелиальной дисфункции и/или уменьшения сосудорасширяющей активности.

Таким образом, реакции СРО липидов играют важную роль в патогенезе ключевых звеньев неиммунного фланга нарушений, развивающихся при ХБП. Очень важным выводом проводимых в последнее время исследований является заключение о том, что ОКСТР и воспаление развиваются на самых ранних стадиях развития ХБП, тем самым значительно увеличивая риск развития атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний [54]. Так,

у больных с ХБП I–II стадии можно найти значительное увеличение продукции O_2^- , которое связано с работой НАДФ-оксидазы, и высвобождения цитокинов. В эритроцитах сходной группы больных снижены активности СОД, глутатион-пероксидазы, а также содержание цинка и меди. Эти нарушения становятся более выраженными по мере снижения величины скорости клубочковой фильтрации и достигают максимума у больных ХБП V стадии. Кроме того, вышеупомянутые АО маркеры отрицательно коррелировали с сывороточным уровнем АДМА и положительно коррелировали с показателями эндотелий-зависимой вазодилатацией. Таким образом, уже на ранних стадиях ХБП ОКСТР развивается в ответ на снижения потенциала АОЗ, что, в свою очередь, запускает механизмы эндотелиального повреждения и сердечно-сосудистых нарушений, опосредованных АДМА – мощного и независимого предиктора сердечно-сосудистого исхода и смертности у больных с ХБП [9].

Стимуляция ОКСТР еще более усиливается на фоне хронической почечной недостаточности, в пользу чего свидетельствуют увеличение количества АФК, повышение концентрации в плазме продуктов ПОЛ, F_2 -изопропанов, 3-хлоротирозина (биомаркера окисления, катализируемого миелопероксидазой), уменьшение содержания АО витаминов С и Е, селена, снижение АО способности, в том числе, и ферментативной [2,3]. Опыты на крысах при удалении у них 5/6 массы почек показали, что ОКСТР – важный патогенетический фактор развития уремической гипертензии, причем ведущее значение среди АФК в этом случае принадлежит увеличению продукции гидроксильного радикала (а не супероксиданиона или перекиси водорода) [3]. У пациентов с ХПН накапливаются продукты ПОЛ и окисления белков, КПИГ (причем, независимо от концентрации глюкозы), усиливается гемолиз эритроцитов, так как окисление белков мембран уменьшает ее эластичность и выживаемость эритроцитов в кровяном русле. Становятся еще более выраженными эндотелиальная дисфункция и атеросклеротические поражения и, как результат, осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы. Наиболее выражен дисбаланс между про- и антиоксидантными параметрами у больных, получающих лечение с помощью гемодиализа, так как на первое место в данном случае выступают факторы бионесовместимости с мембраной и выработки эндотоксинов [2]. У этих пациентов накапливаются окисленные ЛПНП, возрастает титр антител к окисленным формам ЛПНП, амилоидоз и гипертензия у больных на гемодиализе также связаны с ОКСТР.

Содержание отдельных фракций фосфолипидов в плазме и эритроцитах крови больных хроническим гломерулонефритом в доазотемической стадии в зависимости от клинической формы и проявлений заболевания ($\bar{X} \pm m$)

Фосфолипиды крови ($\times 10^{-2}$ г/л)	Доноры (n=28)	Больные хроническим гломерулонефритом с сохранной функцией почек			Достоверность различий между данными
		ИМС (n=20)	ВАГ (n=40)	НС + ВАГ (n=17)	
		I	II	III	
ОФЛ пл.	208,25 ± 3,56	229,51 ± 8,27 *	265,61 ± 9,08 **	308,85 ± 13,76**	P I-II < 0,02; P II-III < 0,02; P I-III < 0,001
ЛФХ пл.	11,23 ± 0,81	18,23 ± 1,75 **	17,5 ± 0,85 **	20,14 ± 1,44 **	-
СФМ пл.	39,09 ± 0,86	47,08 ± 3,04 *	56,23 ± 2,39 **	70,04 ± 3,43 **	P I-II < 0,05; P II-III < 0,01; P I-III < 0,001
ФХ пл.	145,25 ± 2,66	154,29 ± 5,61	177,52 ± 6,56 **	203,47 ± 10,58 **	P I-II < 0,05; P II-III < 0,05; P I-III < 0,001
ФЭА пл.	12,47 ± 1,05	9,96 ± 1,14	13,28 ± 0,81	15,65 ± 1,27	P I-II < 0,05; P I-III < 0,01
ОФЛ эр.	255,09 ± 2,05	250,28 ± 5,58	219,92 ± 3,51 **	208,42 ± 4,19 **	P I-II < 0,001; P I-III < 0,001
ЛФХ эр.	3,18 ± 0,35	6,61 ± 0,78 **	6,26 ± 0,54 *	6,76 ± 1,16 **	-
СФМ эр.	65,30 ± 1,86	67,48 ± 2,66	62,74 ± 1,64	59,20 ± 1,77 *	-
ФС эр.	27,13 ± 1,01	20,83 ± 2,48 *	15,66 ± 0,87 **	16,22 ± 1,49 **	P I-II < 0,02
ФХ эр.	77,40 ± 0,91	84,12 ± 2,32 *	69,98 ± 1,72 *	66,09 ± 2,75 **	P I-II < 0,001; P I-III < 0,001
ФЭА эр.	80,65 ± 2,09	70,83 ± 2,41 *	64,67 ± 1,46 **	60,24 ± 2,07 **	P I-II < 0,05; P I-III < 0,01

Примечание. ИМС – изолированный мочевого синдром; ВАГ – вторичная артериальная гипертензия; НС – нефротический синдром. n – число обследованных лиц. Прочерк означает отсутствие статистически достоверных различий между данными. Данные больных статистически достоверно отличаются от данных доноров с достоверностью $p < 0,05$ (*) и $p < 0,001$ (**).

Таким образом, ОКСТР вызывает эндотелиальную дисфункцию и атеросклероз и, следовательно, осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы. Стимуляция ОКСТР имеет важное значение на самых ранних стадиях развития ХБП, в прогрессировании ХБП и развитии почечной недостаточности [55].

Нами также получены данные о состоянии показателей ПОЛ и АОЗ у пациентов с ХГН.

Полученные результаты показали, что у больных ХГН с сохранной функцией почек даже при самом благоприятном варианте течения заболевания (на этапе полной клинико-лабораторной ремиссии или тогда, когда ХГН проявляла себя только изолированным мочевым синдромом) имеются нарушения как среди прооксидантных (накопление МДА в эритроцитах), так и среди АО параметров крови (снижение Т-SHгp. в плазме и общей пероксидазной активности – ОПА – крови). Следовательно, были получены доказательства того, что в плазме крови уменьшается объем пула самых лабильных факторов системы АОЗ – восстановленных сульфгидрильных групп, а в эритроцитах (и можно предположить, в других клетках, в том числе почечной ткани) уже можно определить повышение уровня метаболита ПОЛ – МДА и падение активности одного из компонентов ферментативного звена АОЗ – ОПА.

По мере трансформации клинико-лабораторных проявлений ХГН, свидетельствующих о более тяжелом протекании заболевания (развитие вторичной артериальной гипертензии, развертывание НС или их сочетания), изменения становятся более выраженными и многочисленными,

однако направленность их остается прежней: накопление продуктов ПОЛ как в плазме (диеновые конъюгаты -ДК), так и в эритроцитах (МДА) и снижение АО потенциала крови, что сочеталось с развитием у пациентов гиперлипидемии (табл. 2).

Субстратом для синтеза ДК и МДА обычно являются НеЖК. Большая их часть содержится в составе ФЛ и в виде эфиров ХС.

Совместное изучение параметров системы ПОЛ-АОЗ и отдельных составляющих ФЛ спектра с проведением корреляционного анализа позволило понять, какие именно фракции ФЛ являются субстратом липопероксидации, а какие фракции, наоборот, мешают избыточному ПОЛ и/или ограничивают его. В качестве объекта для сопоставления параметров двух систем служила кровь больных ХГН с сохранной функцией почек в фазе полной клинико-лабораторной ремиссии. (табл. 3).

По мере прогрессирования заболевания в плазме происходит постепенное увеличение всех фракций ФЛ за исключением ФЭА. ФЛ распределяются в основном между ЛПВП и ЛПНП. Однако ЛПВП обладают свойством предохранять ЛПНП от избыточной пероксидации. Все это исключает возможность стимуляции ПОЛ плазмы крови за счет ФЛ, входящих в состав ЛПВП. Вероятнее всего, увеличение ОФЛпл. крови связано с ускорением синтеза ЛПНП, что подтверждается наличием прямой корреляционной взаимосвязи как между ОФЛпл. и общими липидами плазмы (ОЛпл.) ($r = +0,56$, $p < 0,001$, $n = 41$), так и между ОФЛпл. и уровнем ХС сыворотки крови ($r = +0,42$, $p < 0,006$, $n = 40$), поскольку до 70% ХС сосредоточено именно в ЛПНП. Об этом же сви-

детельствует и прямая зависимость между уровнем СФМпл. и ОЛпл. ($r=+0,42$, $p<0,006$, $n=41$), а также между СФМпл. и ХС сыворотки крови ($r=+0,46$, $p<0,003$, $n=40$), так как СФМпл. концентрируется в основном в ЛПНП. Основными ФЛ в качестве субстратов для перекисидации являются ФХ и СФМ. Это предположение основано на том, что, во-первых, ФХ является основным ФЛ, составляя до 70% от всей массы ФЛ, во-вторых, между уровнями ФХпл. и СФМпл. и концентрацией ДКпл. имеется положительная корреляционная зависимость ($r=+0,37$, $p<0,05$, $n=40$ и $r=+0,36$, $p<0,05$, $n=40$). Наконец, это же подтверждают и уравнения линейной регрессии, полученные нами при проведении множественного регрессионного анализа, два из которых мы приводим в качестве примера:

$$\begin{aligned} \text{ФХ}_{\text{пл.}} &= 128,86 + 12,48 (\text{ТГ}) + 7,96 (\text{ДК}_{\text{пл.}}); \\ R^2 &= 0,22; F = 7,68; p < 0,0011 \\ \text{СФМ}_{\text{пл.}} &= 46,83 + 4,17 (\text{ДК}_{\text{пл.}}); R^2 = 0,12; \\ F &= 7,47; p < 0,0084 \end{aligned}$$

В состав первого уравнения входит уровень ТГ, который, как известно, является маркером ЛПОНП. Следовательно, можно предполагать, что процессу ПОЛ подвергаются не только ФЛ ЛПНП, но и ФЛ в составе ЛПОНП. Дополнительным

подтверждением этого может служить тот факт, что основным ФЛ фракции ЛПОНП является ФЭА, содержащий в своем составе много НеЖК.

Таким образом, проведенные корреляционный и множественный регрессионный анализы позволяют заключить, что основными ФЛ при стимуляции ПОЛ в плазме крови больных ХГН являются ФХ и СФМ в составе ЛПНП и в меньшей степени – в составе ЛП очень низкой плотности (ЛПОНП). При этом нельзя исключить, что усиленной перекисидации могут подвергаться НеЖК не только в составе ФЛ, но и входящие в состав эфиров ХС, большая часть которых также содержится в ЛПНП.

Были получены достоверные доказательства, что в эритроцитах ПОЛ подвергаются наиболее легко окисляемые фракции внутреннего слоя мембраны – ФС и ФЭА. Накопление лизоФХэр. в результате активации фосфолипазы A_2 свидетельствует о дезинтеграции мембранных структур и снижении общего содержания в них как липидов, так и белков, свидетельством чего являются обратные корреляционные взаимоотношения между уровнем лизоФХэр. и количеством ОЛэр. и общим белком эритроцитов (ОБэр.) В ответ на стимуляцию ПОЛ на самом начальном этапе развития ХГН (когда заболевание проявляется только мочевым синдромом) компенсаторно-приспособительного



Рис. 6. Место нарушений в системе перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты крови больных хроническим гломерулонефритом в неиммунных механизмах прогрессирования заболевания.

потенциала клеток хватает на то, чтобы обогатить мембрану более устойчивой к окислению фракцией ФХ. Однако при более тяжелых вариантах течения ХГН (при развитии вторичной артериальной гипертензии и НС) этот компенсаторный механизм перестает работать и в эритроцитах происходит прогрессивное истощение всех фракций ФЛ, что касается даже самой устойчивой к окислению фракции СФМ.

Усиление ПОЛ и снижение уровня всех представителей ФЛ, за исключением лизоФХэр., в красных кровяных клетках, как показал корреляционный анализ, сопровождается не истощением, как можно было бы предположить, а, напротив, накоплением АО потенциала эритроцитов, что носит явно компенсаторный характер. Для сохранения структурной целостности мембран в условиях стимулирования ПОЛ необходимо, видимо, гораздо большее количество основного структурного антиоксиданта – ТФ. Так, нами отмечена высокодостоверная прямая связь между накоплением МДАэр. и уровнем ТФэр. ($r=+0,61$, $p<0,0001$, $n=355$) на очень большом количестве обследованных лиц, больных ХГН. С этой же точки зрения следует рассматривать, видимо, и обратные взаимоотношения между всеми классами ФЛэр. (естественно, за исключением лизоФХ) и Т-SHGr.эр. Общие сульфгидрильные группы эритроцитов представлены в основном остатками цистеина в составе эритроцитарных белков, в то время как доля небелкового компонента восстановленных тиолов (NP-SHGr.эр.), представленного главным образом восстановленным глутатионом, составляет, по нашим данным, приблизительно 7%. Остатки цистеина содержатся как в составе гемоглобина, так и в составе мембранных, в том числе ферментных белков, в частности, АТФ-аз, функциональная активность которых при патологии возрастает. Аналогичные данные о повышении Т-SHGr.эр. как компенсаторной реакции на стимуляцию ПОЛ у больных ХГН в доазотемической стадии получены и другими авторами. Также было показано, что в эритроцитах больных ХГН отмечается стимуляция окисления глюкозы в реакциях пентозо-фосфатного шунта. Нам представляется вполне вероятным, что возрастание Т-SHGr.эр., необходимое для нормального функционирования эритроцитов, связано как раз с этими реакциями, причем глутатион при этом выполняет функцию низкомолекулярного переносчика восстановленных эквивалентов с образующегося НАДФН₂ на эритроцитарные белки.

Таким образом, уже на самых ранних этапах развития ХГН происходят изменения фракционного

состава ФЛ как плазмы, так и эритроцитов, которые наиболее выражены при развитии у больных НС. В плазме крови происходит увеличение всех фракций ФЛ, но, в первую очередь, метаболически наиболее инертного СФМ и продуктов деградации ФЛ (лизоФХ). В эритроцитах, наоборот, имеет место истощение ФЛ состава, в первую очередь, фракций внутреннего слоя мембран клеток.

Проведенный с помощью корреляционного метода анализ системы ПОЛ-АОЗ и ФЛ спектра крови больных ХГН с сохранной функцией почек позволил выявить множественные корреляции между отдельными параметрами двух систем. Показано, что основным субстратом для образования продуктов ПОЛ являются ФХпл. и СФМпл. в составе ЛПНП и ЛПОНП. Изменение ФЛ спектра плазмы способствует истощению как наружной (ФХэр. + СФМэр.), так и внутренней (ФСэр. + ФЭАэр.) части бислоя мембраны эритроцитов. Компоненты внутренней части бислоя являются основным источником образования продуктов ПОЛ в клетках. Избыточная липопероксидация приводит в конечном итоге к истощению общих липидных компонентов клеток, что еще более дестабилизирует клеточную мембрану. При этом в качестве компенсаторной реакции на усиленное ПОЛ в эритроцитах возрастает уровень антиоксидантов – ТФ и восстановленных тиоловых групп.

Несмотря на тесную взаимосвязь между системами, они организованы и функционируют достаточно автономно друг от друга. Однако нарушения в обеих системах начинаются на самых ранних этапах развития ХГН и системы участвуют в неиммунных механизмах развития и прогрессирования ХГН.

Мы показали, что изменение величин компонентов ПОЛ и АОЗ наступает на самых ранних и малосимптомных этапах развития ХГН. Возможно, что на этапе «дебюта» заболевания именно параметры ПОЛ и АО потенциала организма являются одними из наиболее чувствительных, опережая прочие метаболические нарушения. Тем не менее, мы считаем, что стимуляция ПОЛ и истощение АО факторов являются все-таки вторичными по отношению к развивающимся нефрогенным гипер- и дислипидемиям (ГЛЕ и ДЛЕ). Нам удалось показать, что изменения АО потенциала и дисбаланс в обмене жиров происходят синхронно и проявляются в максимальной степени при развитии НС. Кроме того, нарушения ПОЛ неспецифичны по отношению к морфологическому типу ХГН. То, что дисбаланс АО потенциала относится не только к плазме, но и к эритроцитам, и, следовательно, другим клеткам организма, в том числе,

почечной ткани, усугубляет имеющиеся повреждения мембран клубочков и канальцевого эпителия, тем самым способствуя дальнейшему прогрессированию заболевания. Несомненное участие компонентов системы ПОЛ и АОЗ в атерогенезе еще более потенцирует развертывание патологических процессов, характерных для развития ХГН, замыкая своего рода «порочный круг» (рис. 6).

Таким образом, нарушения в системе ПОЛ и АОЗ крови больных ХГН, будучи, с одной стороны, вторичными по отношению к дисбалансу процессов обмена липидов на фоне данного заболевания, а, с другой стороны, будучи неспецифическими, тем не менее занимают важное место в неиммунных механизмах прогрессирования ХГН и нуждаются в соответствующей коррекции.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Galle J, Wanner C. Oxidative stress and vascular injury – relevant for atherogenesis in uraemic patients? *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12(12): 2480-2483
- Locatelli F, Canaud B, Eckardt K-U et al. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(7): 1272-1280
- Tepe M. Oxidative stress: does it play a role in the genesis of essential hypertension and hypertension of uremia. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(8): 1439-1442
- Петрович ЮА, Гуткин ДВ. Свободно-радикальное окисление и роль в патогенезе воспаления, ишемии и стресса. *Патол физиол эксперим терапия* 1986; (5): 85-92
- Рудько ИА, Балашова ТС, Кубатиев АА, Ермоленко ВМ. Состояние прооксидантной и антиоксидантной систем эритроцитов у больных с хронической почечной недостаточностью. *Тер арх* 1995; 67(8): 7-9
- Li J-V, Shah AM. ROS generation by nonphagocytic NADPH oxidase: potential relevance in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 [Suppl. 3]: 221-226
- Ward RA, McLeish KR. Methylglyoxal: a stimulus to neutrophil oxygen radical production in chronic renal failure? *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19(7): 1702-1707
- Descamps-Latscha B, Khoa TN, Witko-Sarsat V et al. Oxidative stress and cardiovascular disease in end stage renal failure. In.: Loscalzo J. and G.M. London, eds. *Cardiovascular disease in end-stage renal failure*. University Press, Oxford 2000; 245-272
- Zalba G, Fortuco A, Diez J. Oxidative stress and atherosclerosis in early chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 2686-2690
- (Pryor WA) Прайер У. Свободные радикалы в биологии (под ред. У.Прайера), в 2-х томах. Мир, М., 1979; Том 1: 318 с.; Том 2: 328
- Narsipur SS, Peterson OW, Smith R et al. Mechanisms of glomerular immune injury: effects of antioxidant treatment. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1748-1755
- Gwinner W, Grone HJ. Role of reactive oxygen species in glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(8): 1127-1132
- Salacci P, Hayoz D. Oxidative stress as the triggering event for vascular remodeling. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13(6): 1343-1346
- Delles C, Klingbeil AU, Schneider MP et al. The role of nitric oxide in the regulation of glomerular haemodynamics in humans. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19(6): 1392-1397
- Vanhelder R, Glorieux G, Lameire N. Uraemic toxins and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(3): 463-466
- Меншутина МА. Сравнительная оценка реактивнос-
- ти сосудов, как формы дисфункции эндотелия у больных атеросклерозом и хронической болезнью почек. *Нефрология* 2004; 8(3): 56-61
- Morimoto H, Nakao K, Fukuoka K et al. Long-term use of vitamin E-coated polysulfone membrane reduces oxidative stress markers in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 2775-2782
- Pfeilschifter J, Eberhardt W, Huwiler A. Nitric oxide and mechanisms of redox signaling. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 [Suppl. 3]: 237-240
- Wolin MS, Ahmad M, Gupta SA. The sources of oxidative stress in the vessel wall. *Kidney Int* 2005; 67: 1659-1661
- Kielstein JT, Bode-Boger SM, Haller H, Fliser D. Functional changes in the aging kidney: is there a role for asymmetric dimethylarginine? *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1245-1248
- Владимиров ЮА, Арчаков АИ. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. Наука, М., 1972; 252
- Witko-Sarsat V, Khoa TN, Jungers P et al. Advanced oxidation protein products as a novel molecular basis of oxidative stress in uraemia. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14 [Suppl. 1]: 76-78
- Меерсон ФЗ. Антиоксидантные факторы организма как система естественной профилактики стрессорных повреждений. *Физиология адаптационных процессов*. Наука, М., 1986; 607-619
- Taki K, Takayama F, Tsuruta Y, Niwa T. Oxidative stress, advanced glycation end products and coronary artery calcification in haemodialysis patients. *Kidney Int* 2006; 70: 218-224
- Губский ЮИ, Беленичев ИФ, Левицкий ЕЛ, Павлов СВ, Горюшко АГ. Механизмы развития когнитивного дефицита под действием кислородных радикалов в условиях стресса. *Сучасні проблеми токсикології* 2006; (3):
- Forbes JM, Cooper ME, Oldfield MD, Thomas MC. Role of advanced glycation end products in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 [Suppl. 3]: 254-258
- Sakurai S, Yonekura H, Yamamoto Y et al. The AGE-RAGE system and diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 [Suppl. 3]: 259-263
- Amore A, Cirina P, Conti G et al. Amadori-configured albumin induces nitric oxide-dependent apoptosis of endothelial cells: a possible mechanism of diabetic vasculopathy. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 53-60
- Iacobini C, Amadio L, Oddi G et al. Role of galectin-3 in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 [Suppl. 3]: 264-270
- Miyata T, Maeda K, Kurokawa K, van Ypersele de Strihou C. Oxidation conspires with glycation to generate noxious advanced glycation end products in renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12(2): 255-258
- (Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW). Марри Р, Греннер Д, Мейес П, Родуэлл В. *Биохимия человека*. В 2-х томах. Мир, М., 1993; Том 1: 384 с.; Том 2: 416 с.
- Денисов ЛН, Лобарева ЛС, Якушева ЕО. Антиоксидантные эффекты витаминов. Значение в ревматологии. *Тер арх* 1994; 66(5): 82-86
- Спиричев ВБ, Коль ИЛ. Жирорастворимые витамины и мембраны. *Журнал Всесоюзного химического общества им. Д.И.Менделеева* 1978; 23(4):425-434
- Saran R, Novak JE, Desai A et al. Impact of vitamin E on plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) in chronic kidney disease (CKD): a pilot study. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(11): 2415-2420
- Климов АН, Кожемякин ЛА, Плесков ВМ, Андреева ЛМ. Антиоксидантный эффект липопротеидов высокой плотности при перекисном окислении липопротеидов низкой плотности. *Бюл эксперим биол мед* 1987; (5): 550-552
- Burton GW, Joyce A, Ingold KU. Is vitamin E the only lipid-soluble, chain-breaking antioxidant in human blood plasma and erythrocyte membrane? *Arch Biochem Biophys* 1983; 221(1): 281-290
- Maggio B, Doplok AT, Lucy JA. Interactions of

tocopherols and ubiquinones with monolayers of phospholipids *Biochem J* 1977; 161(1): 111-121

38. Eaton P, Jones ME, McGregor E et al. Reversible cysteine-targeted oxidation of proteins during renal oxidative stress. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 [Suppl. 3]: 290-296

39. Говорова НЮ, Шаронов БП, Лызлова СН. Окислительное повреждение эритроцитов миелопероксидазой. Защитное действие сывороточных белков. *Бюл эксперим биологии и медицины* 1989; (4): 428-430

40. Шаронов БП, Говорова НЮ, Лызлова СН. Антиокислительные свойства и деградация белков сыворотки активными формами кислорода (O_2 , OCl), генерируемыми стимулированными нейтрофилами. *Биохимия* 1988; 53(5): 816-825

41. Vuong TD, Braam B, Willekes-Koolschijn N et al. Hypoalbuminemia enhances the renal vasoconstrictor effect of lysophosphatidylcholine. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(8): 1485-1492

42. Миллер ЮИ. Связывание ксенобиотиков альбумином сыворотки крови. *Клинич лаб диагностика* 1993; (1): 34-40

43. Ok E, Basnakian AG, Apostolov EO et al. Carbamylated low-density lipoprotein induces death of endothelial cells: A link to atherosclerosis in patients with kidney disease. *Kidney Int* 2005; 68: 173-178

44. Митрофанова ОВ, Куликова АИ. Состояние фосфолипидов крови при ХГН. В: *Нефрология (Рабочее совещание нефрологов Северо-Запада России)*: Сборник материалов. Санкт-Петербург, 1996: 72-76

45. Zocalli C. Traditional and emerging cardiovascular and renal risk factors: an epidemiological perspective. *Kidney Int* 2006; 70: 26-33

46. Смирнов АВ. Дислиппротеидемия как один из иммунных механизмов прогрессирования склеротических процессов в почечной паренхиме. *Нефрология* 1997; (2): 7-12

47. Chana RS, Wheeler DC, Thomas GJ et al. Low-density lipoprotein stimulates mesangial cells proteoglycan and hyaluronan synthesis *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(2): 167-172

48. Багирова РД, Алекперова НВ, Синяченко ОВ и др. Исследование продуктов перекисного окисления и ренальных функций при нефрогенной гипертензии. *Врач дело* 1993; (2-3): 81-85

49. Pallone TL. Is oxidative stress differentially regulated in the renal cortex and medulla? *Nature Clinical Practice Nephrology* 2006; 2(3): 118-119

50. Bevers M, van Faassen EE, Vuong TD et al. Low albumin levels increase endothelial NO production and increase vascular NO sensitivity. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 3443-3449

51. Bayers B, Pastor MC, Bonal J et al. Oxidative stress, inflammation and cardiovascular mortality in haemodialysis – role of seniority and intravenous ferrotherapy: analysis at 4 year follow-up. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 984-990

52. Fumeron C, Nguyen-Khoa T, Saltiel C et al. Effects of oral vitamin C supplementation on oxidative stress and inflammation status in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1874-1879

53. Stewart T, Jung FF, Manning J, Vehaskari VM. Kidney immune cell infiltration and oxidative stress contribute to prenatally programmed hypertension. *Kidney Int* 2005; 68: 2180-2188

54. Galle J, Seibold S. Has the time come to use antioxidant therapy in uraemic patients? *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(8): 1452-1455

55. Shimizu MHM, Coimbra TM, de Araujo M et al. N-acetylcysteine attenuates the progression of chronic renal failure. *Kidney Int* 2005; 68: 2208-2217

Поступила в редакцию 30.05.2007 г.

Принята в печать 22.06.2007 г.

© А.Ж.Карабаева, А.М.Есаян, И.Г.Каюков, 2007

УДК 616.61-008.64-036.12-085.38:616.12-008.331.1+616.127:61.001.57]:577.175.532

А.Ж. Карабаева, А.М. Есаян, И.Г. Каюков

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА АЛЬДОСТЕРОНСИНТАЗЫ С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ АЛЬДОСТЕРОНА ПЛАЗМЫ, АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЕМ МИОКАРДА У БОЛЬНЫХ НА ПРОГРАММНОМ ГЕМОДИАЛИЗЕ

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

ASSOCIATION OF ALDOSTERONE SYNTHASE GENE POLYMORPHISM WITH CONCENTRATION OF PLASMA ALDOSTERONE, ARTERIAL HYPERTENSION AND MYOCARDIUM REMODELING IN PROGRAM DIALYSIS PATIENTS

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

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Изучить ассоциации полиморфизма гена альдостеронсинтазы с величиной концентрации альдостерона плазмы (КАП), степенью артериальной гипертензии (АГ) и ремоделированием миокарда левого желудочка (ГЛЖ) у больных с V стадией хронической болезни почек (ХБП), получающих программный гемодиализ (ГД). **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Обследовано 84 пациента с V стадией ХБП. Средний возраст обследованных – 51±15 лет. Средняя длительность терапии ГД – 7,7±0,5 лет. У 55 пациентов (65,5 %) течение основного заболевания осложнилось развитием артериальной гипертензии (АГ). Средняя длительность АГ составила 12,9±1 год. Концентрацию альдостерона плазмы (КАП) определяли иммуноферментным методом. Состояние левого желудочка (ЛЖ) оценивалось по объему и толщине стенок ЛЖ в диастолу (КДР, см), массе миокарда левого желудочка (ММЛЖ, г), индексированной к площади поверхности тела (ИММЛЖ, г/м²), отношению толщина стенки/диаметр полости левого желудочка (ОТС). Тип ремоделирования определялся как нормальная геометрия, концентрическая гипертрофия ЛЖ, эксцентрическая гипертрофия ЛЖ и концентрическое ремоделирование. Аллели полиморфного маркера – 344Т/С гена CYP11B2 идентифицировали с помощью полимеразной цепной реакции с последующей обработкой продуктов амплификации рестриктазой. Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. Различия признавали достоверными при p<0,05. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** У 21 пациента (25%) определен С/С генотип, у 33 – (39,3%) – С/Т генотип и у 30 – (35,7%) – Т/Т генотип. У всех пациентов, независимо от нуклеотидного полиморфизма, отмечено резкое повышение КАП (у пациентов с С/С генотипом – 653,08±186,61, у пациентов с С/Т генотипом – 454,92±78,77 и у пациентов с Т/Т генотипом – 587,94±128,09 пг/мл, при норме 10-160). Пациенты с генотипом С/С имеют более высокий уровень САД (141,1±2,8 мм рт. ст.) и ДАД (91,3±1,5 мм рт.ст.) против 135,6±2,1 (p<0,01) и 86,8±1,4 у пациентов с С/Т генотипом (p<0,05) и 132,8±1,9 и 81,1±1,1 (p<0,01) у пациентов с Т/Т генотипом. Кроме того, у пациентов с С/С генотипом отмечена большая толщина МЖП (1,39±0,09) против 1,24±0,05 у пациентов с С/Т генотипом и 1,24±0,03 (p<0,05) у пациентов с Т/Т генотипом, ММЛЖ – 312,1±34,05 против 270,43±26,75 и 238,47±16,76 (p<0,05) соответственно, и ИММЛЖ – 186,2±21,25 против 270,43±26,75 и 238,47±16,76 (p<0,01) соответственно. При этом наибольший процент концентрической ГЛЖ (61,1%) соответствовал носителям С/С генотипа. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Ассоциации нуклеотидного полиморфизма с величиной КАП не выявлено. Носители С/С генотипа альдостеронсинтазы имеют достоверно более высокие цифры АД, большую массу миокарда ЛЖ, индекс массы миокарда ЛЖ и самый высокий процент концентрической ГЛЖ, что сопряжено с более неблагоприятным прогнозом.

Ключевые слова: полиморфизм гена альдостеронсинтазы, альдостерон, артериальная гипертензия, гипертрофия левого желудочка, хроническая болезнь почек, программный гемодиализ.

ABSTRACT

THE AIM of the investigations was to study the association of aldosterone synthase gene polymorphism with the value of concentration of plasma aldosterone (CPA), the degree of arterial hypertension (AH) and left ventricle myocardium remodeling (LVR) in patients with the V stage of chronic kidney disease (CKD) on program hemodialysis (HD). **PATENTS AND METHODS.** An examination of 84 patients with the V stage of CKD was carried on. Mean age of the patients was 51±15 years. Mean duration of HD therapy was 7.7±0.5 years. In 55 patients (65.5%) the course of the main disease was complicated by the development of arterial hypertension (AH). Mean duration of AH was 12.9±1 years. CPA was determined by an immuno-enzymatic method. The state of the left ventricle (LV) was assessed by the volume and thickness of LV walls in diastole (cm), LV myocardium mass (LVMM, g) indexed to the body surface area (ILVMM, g/m²), the ratio of the wall thickness/diameter of the LV cavity. The remodeling type was determined as normal geometry, LV concentric hypertrophy, LV excentric hypertrophy and concentric remodeling. The polymorphous marker alleles – 344T/C of gene CYP11B2 were identified using the polymerase chain reaction. The amplification products were treated with restrictase. The data obtained were processed using the application package STATISTICA 6.0. The distinctions were considered reliable at p<0.05. **RESULTS.** In 21 patients (25%) the C/C genotype was

determined, in 33 patients (39.3%) – C/T genotype and in 30 (35.7%) – the T/T genotype. In all the patients, irrespective of the nucleotide polymorphism, a sharp elevation of CPA was noted (in C/C genotype patients – 653.08 ± 186.61 , in C/T genotype patients – 454.92 ± 78.77 and in T/T genotype patients – 587.94 ± 128.09 pg/ml, at the norm 10-160). C/C genotype patients have a higher level of SAP (141.1 ± 2.8 mmHg) and DAD (91.3 ± 1.5 Hg mm) compared to 135.6 ± 2.1 ($p < 0.01$) and 86.8 ± 1.4 in C/T genotype patients ($p < 0.05$) and 132.8 ± 1.9 and 81.1 ± 1.1 ($p < 0.01$) in patients with T/T genotype. Furthermore, the patients with C/C genotype have greater thickness of the interventricular septum (1.39 ± 0.09) compared to 1.24 ± 0.05 in patients with C/T genotype and 1.24 ± 0.03 ($p < 0.05$) in patients with T/T genotype, LVMM – 312.1 ± 34.05 compared to 270.43 ± 26.75 and 238.47 ± 16.76 ($p < 0.05$) respectively, and ILVMM – 186.2 ± 21.25 compared to 270.43 ± 26.75 and 238.47 ± 16.76 ($p < 0.01$) respectively. The greatest percentage of LV concentric hypertrophy (61.1%) corresponded to the C/C genotype carriers. **CONCLUSION.** An association of nucleotide polymorphism with the CPA value was not revealed. The carriers of the C/C genotype of aldosterone synthase have reliably higher AP, greater mass of the LV myocardium, index of the LV myocardium mass and the highest percentage of concentric LVH which is associated with a more unfavorable prognosis.

Key words: aldosterone synthase gene polymorphism, aldosterone, arterial hypertension, left ventricle hypertrophy, chronic kidney disease, program hemodialysis.

ВВЕДЕНИЕ

Минералкортикоидный гормон альдостерон является компонентом ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) организма и принимает участие в поддержании водно-солевого баланса и артериального давления через стимуляцию эпителиальных минералкортикоидных рецепторов (МР) дистального отдела нефрона, толстого кишечника, слюнных и потовых желез. Однако установлено, что альдостерон не только является регулятором мембранного транспорта ионов, но и играет большую роль в развитии и прогрессировании кардиоваскулярной патологии, связываясь с неэпителиальными МР головного мозга, миокарда и сосудов. Биосинтез альдостерона контролируется ренин-ангиотензиновой системой вместе с ионами калия, предсердным натрийуретическим гормоном, адренокортикотропным гормоном и дофамином, а катализирует синтез альдостерона из дезоксикортикостерона ген альдостеронсинтазы (CYP11B2) [1, 2].

В настоящее время изучению полиморфных маркеров, относящихся к генам РААС, уделяется большое внимание. Достаточно подробно изучен полиморфизм генов ангиотензинпревращающего фермента, рецепторов ангиотензина II 1 и 2 типов, ангиотензиногена. Несколько меньше данных представлено по изучению гена альдостеронсинтазы, который расположен в области g21 хромосомы 8, состоит из девяти экзонов и восьми интронов. Идентифицировано несколько мутаций гена. Наиболее исследован полиморфизм 5 участка данного гена, проявляющийся заменой цитозина на тимин в 344-м положении нуклеотидной последовательности. Этот участок является сайтом связывания стероидогенного фактора транскрипции SF-1, регулятора экспрессии гена альдостеронсинтазы. Нуклеотидный полиморфизм, согласно последним исследованиям, воздействует на уровень альдостерон-ренинового соотношения: 344Т-аллель гена CYP11B2 ассоциирован с повышением альдостерон-рениновой активности в плазме [3].

Ряд исследований был предпринят для анализа взаимосвязи полиморфизма гена CYP11B2 с артериальной гипертензией (АГ), течением почечной недостаточности и поражением органов-мишеней. Одними авторами обнаружена ассоциация носительства аллеля С CYP11B2 со скоростью прогрессирования почечной недостаточности [3–5]. Другими – признается связь структурного полиморфизма данного гена с массой миокарда, объемом полости левого желудочка (ЛЖ) и диастолической дисфункцией у здоровых лиц [6, 7], а Н. Schunkert и соавт. не выявили корреляции нуклеотидного полиморфизма ни с АГ, ни с уровнем альдостерона, ни с поражением органов-мишеней [8].

Целью нашей работы явилось изучение ассоциации полиморфизма гена альдостеронсинтазы с артериальной гипертензией и ремоделированием миокарда у больных на программном гемодиализе (ГД).

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 84 пациента с V стадией хронической болезни почек (ХБП). Средний возраст обследованных – 51 ± 15 лет. Средняя длительность терапии ГД – $7,7 \pm 0,5$ лет. У 55 пациентов (65,5%) отмечена АГ, средняя длительность которой составила $12,9 \pm 1$ год. У обследованных пациентов определялась концентрация альдостерона плазмы (КАП) с применением иммуноферментного анализа. Забор венозной крови для измерения указанных показателей производился утром, до сеанса ГД. С целью оценки функционального состояния ЛЖ выполнялось ЭхоКГ исследование. При этом оценивались следующие параметры: объем и толщина стенок ЛЖ в диастолу, ММЛЖ по формуле ASE, индексированная к площади поверхности тела (ИММЛЖ), отношение толщина стенки/диаметр полости левого желудочка (ОТС). Гипертрофию и ремоделирование ЛЖ диагностировали при ИММЛЖ 125 г/м² и более у мужчин и 110 г/м² и более у женщин, увеличение ОТС расценивалось

при значениях 0,45 и более. Тип ремоделирования определялся в соответствии с современными представлениями: нормальная геометрия (ИММЛЖ в норме, $ОТС < 0,45$), концентрическая гипертрофия ЛЖ (ИММЛЖ повышен, $ОТС > 0,45$), эксцентрическая гипертрофия ЛЖ (ИММЛЖ повышен, $ОТС < 0,45$) и концентрическое ремоделирование (ИММЛЖ в пределах нормы, $ОТС > 0,45$).

Аллели полиморфного маркера – 344Т/С гена СУР11В2 идентифицировали с помощью полимеразной цепной реакции с последующей обработкой продуктов амплификации рестриктазой *NotI*.

Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. Различия признавали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ распределений частот генотипов по полиморфному маркеру – 344Т/С гена СУР11В2 показал, что 21 пациент (25%) имеет С/С генотип, 33 (39,3%) – С/Т генотип и 30 (35,7%) – Т/Т генотип.

У всех пациентов, вне зависимости от генотипа, имеет место резко повышенный уровень альдостерона. При норме 10-160 пг/мл КАП у пациентов с С/С генотипом составила $653,08 \pm 186,61$, у пациентов с С/Т генотипом – $454,92 \pm 78,77$ и у пациентов с Т/Т генотипом – $587,94 \pm 128,09$.

Далее был проведен анализ уровня систолического (САД) и диастолического артериального давления (ДАД) в группах больных в зависимости от

нуклеотидного полиморфизма. Первую группу составили больные с С/С, вторую – с Т/С, третью – с Т/Т генотипом. Данные представлены в табл. 1.

Из данных табл. 1 следует, что пациенты с генотипом С/С имеют достоверно более высокий уровень САД и ДАД в сравнении с пациентами с генотипом С/Т и Т/Т.

Функциональное состояние ЛЖ также оценивалось в зависимости от нуклеотидного полиморфизма. Данные исследования свидетельствуют о том, что пациенты с С/С и С/Т генотипом имели достоверно больший размер ЛЖ в диастолу в сравнении с пациентами с Т/Т генотипом, а ММЛЖ, ИММЛЖ и ТМЖП были достоверно выше у пациентов с С/С генотипом в сравнении с двумя другими группами пациентов. Результаты представлены в табл. 2.

При оценке типа ремоделирования в зависимости от нуклеотидного полиморфизма выявлено, что у носителей СС генотипа 57,9% пациентов имеют концентрическую гипертрофию ЛЖ, 31,6% – концентрическое ремоделирование ЛЖ, 10,5% – эксцентрическую гипертрофию ЛЖ, нормальная геометрия в данной группе пациентов отсутствовала. Среди носителей С/Т генотипа концентрическая гипертрофия ЛЖ выявлена у 53,8% пациентов, концентрическое ремоделирование ЛЖ – у 19,2%, эксцентрическая гипертрофия ЛЖ – у 15,4% и нормальная геометрия – у 11,5%. Среди носителей Т/Т генотипа концентрическая гипертрофия ЛЖ выявлена у 35,7% пациентов, концентрическое ремоделирование ЛЖ – у 53,6%, эксцентрическая гипертрофия ЛЖ – у 7,1% и нормальная геометрия – у 3,6%.

Не выявлено достоверных различий в частоте диастолической дисфункции в зависимости от генотипа, в среднем ее развитие по I типу диагностировано у 50% пациентов в каждой группе.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего исследования позволили обнаружить ряд ассоциаций между носительством определенных генотипов полиморфного маркера гена СУР11В2 и состоянием сердечно-сосудистой системы у пациентов с ХБП. При этом обращает на себя внимание факт выявления более высоких цифр АД и более значимых изменений структуры ЛЖ у носителей С-аллеля гена альдостеронсинтазы.

При изучении ассоциаций полиморфных маркеров генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) с течением и прогрессированием ХГН рядом авторов С-аллель отнесен к так называемому неблагоприятному, так как выявлена ас-

Таблица 1

Уровень САД и ДАД в зависимости от генотипа, $\bar{X} \pm m$

Показатель	Генотип С/С (n=21)	Генотип С/Т (n=33)	Генотип Т/Т (n=30)
САД, мм рт. ст.	142±2	134±2*	133±2**
ДАД, мм.рт.ст	91±1	86±1***	81±1***

Примечание. * – $p < 0,05$ между 1 и 2 группами, ** – $p < 0,01$ между 1 и 3 группами, *** – $p < 0,001$ между 1 и 2, 1 и 3, 2 и 3 группами.

Таблица 2

Показатели КДР, ММЛЖ и ТМЖП в зависимости от генотипа, $\bar{X} \pm m$

Показатель	Генотип С/С (n=21)	Генотип С/Т (n=33)	Генотип Т/Т (n=30)
КДР	4,63±0,21	4,62±0,14	4,13±0,14*
ММЛЖ	308,88±32,37	262,6±21,29	216,55±13,88**
ИММЛЖ	184,21±20,2	148,72±12,51#	122,17±8,01##
ТМЖП	1,39±0,09	1,2±0,04***	1,22±0,02****

Примечание. * – $p < 0,05$ между 1 и 3 группами, ** – $p < 0,001$ между 1 и 3 группами, # – $p < 0,05$ между 1 и 2 группами, ## – $p < 0,001$ между 1 и 3 группами, *** – $p < 0,05$ между 1 и 2 группами, **** – $p < 0,05$ между 1 и 3 группами.

социация этого аллеля с худшим прогнозом в отношении как прогрессирования заболеваний почек, так и поражения сердечно-сосудистой системы [3-5, 9].

Так данные нашего исследования свидетельствуют о том, что все пациенты, независимо от нуклеотидного полиморфизма, имеют очень высокие значения КАП, однако при наличии С/С генотипа выявлены достоверно большие уровень АД, объем полости ЛЖ и толщина миокарда ЛЖ. Наши результаты согласуются с данными других исследований, в которых среди носителей С-аллеля СУР11В2 выявлена более тяжелая симптоматика и наличие АГ у больных с ХГН [10]. В качестве основных причин, обуславливающих худший прогноз при носительстве С-аллеля, обсуждается прямая (вследствие повышенного образования альдостерона) и опосредованная (вследствие относительного избытка ангиотензина II на фоне недостаточной продукции оксида азота) активация РААС [11, 12].

Роль РААС в патогенезе АГ до сегодняшнего дня остается предметом изучения, однако показано, что более 10% пациентов с АГ имеют повышенное альдостерон-рениновое соотношение (ARR) в плазме [13]. У этих пациентов АД плохо поддается коррекции, несмотря на комбинированную антигипертензивную терапию. Было высказано предположение о том, что применение блокаторов альдостероновых рецепторов могло бы оказать положительное влияние на коррекцию АД у этой категории пациентов. Действительно, в исследовании P.O.Lim и соавт. [14] была показана стабилизация АД у больных с повышенным ARR при применении блокатора альдостероновых рецепторов – спиронолактона.

Полиморфизм гена альдостеронсинтазы ассоциируется с тяжестью АГ. Так, показано, что у больных с С-аллелем наблюдалась тенденция к более частому выявлению тяжелой АГ (АД свыше 160/110 мм рт.ст.) по сравнению с носителями Т-аллеля [10, 15]. В нашем исследовании также носители С-аллеля имеют более выраженную тяжесть гипертонии. Более того, среди пациентов с С/С генотипом отмечен достоверно более высокий уровень как САД, так и ДАД не только в сравнении с носителями Т/Т, но и с носителями С/Т генотипа.

Ген альдостеронсинтазы отнесен к генам-кандидатам в развитии ремоделирования сердечно-сосудистой системы. Предпосылками к поиску генетических маркеров ГЛЖ и ремоделирования сосудов послужили данные клинических и экспериментальных исследований. Было установлено,

что ГЛЖ достаточно часто распространена среди лиц, у которых нет гемодинамических причин к ее развитию [16], у нормотензивных лиц с отягощенной по АГ наследственностью наблюдаются более высокие значения ММЛЖ, чем в контроле [17]. У больных с АГ, так же как и в общей популяции, отмечается наследование предрасположенности к гипертрофии ЛЖ [18], а в линиях экспериментальных животных с генетической предрасположенностью к АГ ремоделирование сердца и сосудов опережает развитие АГ [19, 20]. Кроме того, характер ремоделирования миокарда также в определенной степени обусловлен наследственными факторами [21].

Результаты нашего исследования выявили наибольшие структурно-функциональные изменения ЛЖ среди носителей неблагоприятного С-аллеля. Достоверно больший размер ЛЖ в диастолу диагностирован среди пациентов с С/Т генотипом, а достоверно большие ММЛЖ, ИММЛЖ и ТМЖП имеют пациенты с С/С генотипом в сравнении с двумя другими группами пациентов. Наличие С-аллеля оказывает также неблагоприятное влияние в отношении типа нарушения геометрии ЛЖ. Среди носителей этого аллеля мы обнаружили наибольший процент самого неблагоприятного в отношении прогноза типа – концентрической ГЛЖ (57,9% против 53,8% и 35,7% у больных с С/Т и Т/Т генотипами соответственно).

У больных с ХБП ремоделирование сердца и сосудов в известной степени объясняется усиленной выработкой альдостерона, поскольку установлено, что именно этот гормон (как в комплексе с ангиотензином II, так и самостоятельно) является стимулятором клеточной гипертрофии и фиброза кардиоваскулярной системы [22,23]. В ряде исследований продемонстрирована зависимость ММЛЖ от уровня альдостерона плазмы [24–26]. Доказано, что в формировании ГЛЖ не последнюю роль играет нарушение нейрогуморальных систем, в частности активация РААС [27].

При избыточной секреции альдостерона выявлена корреляция между уровнем альдостерона, ТМЖП и ЗСЛЖ. У пациентов с альдостеронсинтезирующими аденомами отмечена ГЛЖ, которая исчезала после резекции опухоли. У молодых здоровых лиц гомозиготы по С-аллелю имели достоверно большую массу миокарда, конечный систолический и диастолический размер ЛЖ по сравнению с гомозиготами по Т-аллелю. Однако, по данным тех же авторов, у большинства больных с АГ такой взаимосвязи не установлено [7].

Геометрия ЛЖ оказывает значительное влияние на прогноз. Во Фремингемском исследовании

был проанализирован прогноз больных с различными типами геометрии ЛЖ и выявлено, что концентрическая гипертрофия имеет худший прогноз в сравнении с эксцентрической, далее следует концентрическое ремоделирование, которое имеет также большее количество осложнений, чем нормальная геометрия. Таким образом, определение ОТС и ИММЛЖ имеет значение в оценке прогноза [28].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя результаты нашего исследования, можно заключить, что все пациенты, независимо от нуклеотидного полиморфизма, имеют резко повышенную КАП, что обуславливает развитие ЭД и дисбаланс в фибринолитическом звене системы гемостаза. Носители С/С генотипа гена альдостеронсинтазы имеют достоверно более высокие цифры АД, наибольшие структурные изменения миокарда ЛЖ, характеризующиеся достоверно большим объемом полости ЛЖ, ММЛЖ, ИММЛЖ и самым высоким процентом концентрической ГЛЖ, что сопряжено с более неблагоприятным прогнозом.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Foster RH, MacFarlane CH, Bustamante MO. Recent progress in understanding aldosterone secretion. *Gen Pharmacol* 1997; 28: 647-651
2. Duprez D, de Buyzere M, Rietzchel ER, Clement DL. Aldosterone and vascular damage. *Curr Hypertens Rep* 2000; 2: 327-334
3. Lovati E, Richard A, Frey B et al. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone systems in end-stage renal disease. *Kidney Int* 2001; 60: 46-54
4. Song J, Narita I, Goto S et al. Gender specific association of aldosterone synthase gene polymorphism with renal survival in patients with IgA nephropathy. *J Med Genet* 2003; 40: 372-376
5. Камышова ЕС, Кутырина ИМ, Носиков ВВ и др. Ассоциация комплекса полиморфных маркеров генов ангиотензинпревращающего фермента, синтетазы альдостерона и эндотелиальной синтетазы оксида азота с прогрессированием хронического гломерулонефрита. *Тер арх* 2004; 9: 16-20
6. Kupari M, Hautanen A, Lankinen L. Association between human aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphism and left ventricular size, mass and function. *Circulation* 1998; 97: 569-575
7. Chen A, Zhang W, Tang X, Lu Q Qian. The relationship of aldosterone synthase gene polymorphism with hypertension and left ventricular hypertrophy. *X Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 2002; 41(5): 298-301
8. Schunkert H, Hengstenberg C, Holmer SR et al. Lack of association between polymorphism of the aldosterone synthase gene and left ventricular structure. *Circulation* 1999; 99: 2225-2260
9. WandY, 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 disease. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 2898-2902
10. Камышова ЕС, Кутырина ИМ, Носиков ВВ и др. Значение полиморфных маркеров генов вазоактивных гормонов в оценке клинических особенностей хронического гломерулонефрита. *Тер арх* 2005; 6: 16-20
11. Locatelli F, Marcelli D, Comelli M, Giangrade A. Proteinuria and blood pressure as causal components of progression to end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11(3): 461-467
12. Remuzzi G, Rugenenti P, Benigni A. Understanding the nature of renal disease progression. *Kidney Int* 1997; 51: 2-15
13. Lim PO, Dow E, Brennan G et al. High prevalence of primary aldosteronism in the Tayside hypertensive clinic population. *J Hum Hypertens* 2000; 14: 311-315
14. Lim PO, Rodgers P, Cardale K et al. Potentially high prevalence of primary aldosteronism in a primary-care population. *Lancet* 1999; 353: 40
15. Pontremoli R, Rawera M, Viazzi F et al. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and organ damage in essential hypertension. *Kidney Int* 2000; 57: 561-569
16. Schirmer H, Lunde P, Rasmussen K. Prevalence of left ventricular hypertrophy in general population. *The Tomso Study Eur Heart J* 1999; 20: 429-438
17. Mo R, Nordrehaug JE, Omvik P et al. Prehypertensive changes in cardiac structure and function in offsprings of hypertensive families. *Blood pressure* 1995; 4: 16-22
18. Schunkert H, Bryckel U, Hengstenberg C et al. Familial predisposition of left ventricular hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 1685-1691
19. Eccleston-Joyner CA, Gray SD. Arterial hypertrophy in the fatal and neonatal spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1988; 12: 513-518
20. Бабак ОЯ, Кравченко НА. Роль ренин-ангиотензиновой системы в ремоделировании сердца и сосудов. *Украинский терапевтический журнал* 2005; 2: 89-97
21. Шляхто ЕВ, Конради АО. Роль генетических факторов в ремоделировании сердечно-сосудистой системы при гипертонической болезни. *Артериальная гипертензия* 2002; 3(4): 22-29
22. Takeda Y, Yoneda T, Demura M et al. Sodium-induced cardiac aldosterone synthesis causes cardiac hypertrophy. *Endocrinology* 2000; 141: 1901-1904
23. Fiebeler A, Schmidt F, Muller DN et al. Mineralocorticoid receptor affects AP-1 and nuclear factor-kappa B activation in angiotensin II induced cardiac injury. *Hypertension* 2001; 37: 787-793
24. Duprez DA, Bauwens FR, Byuzere ML et al. Influence of arterial blood pressure and aldosterone on left ventricular hypertrophy in moderate essential hypertension. *Am J Cardiol* 1993; 71: 17A-20A
25. Navarro-Lopez F, Coca A, Pare JC et al. Left ventricular hypertrophy in asymptomatic essential hypertension: its relationship with aldosterone and the increase of sodium-proton exchanger activity. *Eur Heart J* 1993; 14 (Suppl. J): 38-41
26. Schunkert H, Hense HW, Danser J. Association between circulating components of the renin angiotensin aldosterone system and left ventricular mass. *Br Heart J* 1997; 77: 24-31
27. Epstein M. Aldosterone as a determinant of cardiovascular and renal dysfunction. *J R Soc Med* 2001; 94(8): 378-83
28. Конради АО. Лечение артериальной гипертензии в особых группах больных. Гипертрофия левого желудочка. *Артериальная гипертензия* 2005; 2 (11)

Поступила в редакцию 24.04.2007 г.

Принята в печать 22.06.2007 г.

© А.Э.Мацониc, М.М.Батюшин, П.Е.Повилайтите, А.С.Литвинов, 2007
УДК 616.12-008.331.1:616.61

А.Э. Мацониc, М.М. Батюшин, П.Е. Повилайтите, А.С. Литвинов

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПОЧКАХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ДЛИТЕЛЬНОСТИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

A.E. Matsionis, M.M. Batyushin, P.E. Povilajtite, A.S. Litvinov

MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF PATHOLOGICAL ALTERATIONS IN THE KIDNEYS DEPENDING ON DURATION OF ARTERIAL HYPERTENSION

Кафедра внутренних болезней №1 Ростовского государственного медицинского университета, Ростовское областное патологоанатомическое бюро Ростовской областной клинической больницы, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬЮ работы явилось изучение морфологических изменений в почках у больных с первичной артериальной гипертензией (АГ) на разных стадиях развития процесса. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Было обследовано 19 пациентов, страдающих АГ, которым была выполнена пункционная нефробиопсия. Средний возраст больных составил $33,4 \pm 12,6$ лет, среди них лиц мужского пола – 11 (57,8%), женского пола – 8 (42,2%). Средняя длительность первичной АГ составила $5,5 \pm 4,5$ лет. Все пациенты были разделены на 3 группы по длительности АГ. В 1-ю группу вошло 7 пациентов с длительностью АГ $1,4 \pm 0,6$ лет; средний возраст больных составил $28,7 \pm 10,2$ лет. Во 2-ю – 6 больных с длительностью АГ $4,5 \pm 0,9$ лет, средний возраст – $42,3 \pm 5,1$ лет. Третью группу составили 6 пациентов; длительность АГ – $11,3 \pm 3,1$ г; средний возраст больных – $40,2 \pm 8,8$ г. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** При светооптической микроскопии в 1-й группе наблюдались изменения прежде всего в интерстициальной ткани, проявляющиеся перигломерулярным фиброзом. Во 2-й группе в морфологической картине к уже вышеописанным изменениям присоединились явления утолщения и фиброзирования стенок сосудов артериального типа, пролиферация гладкомышечного слоя артериол, признаки субатрофии и атрофии в канальцах, усилились явления гидропической и белковой дистрофии в нефротелии. В 3-й группе наблюдались признаки склерозирования клубочков, сохранные клубочки значительно гипертрофированы, наблюдалась умеренная мезангиальная гиперклеточность и парамезангиальный гиалиноз, выраженный перигломерулярный фиброз, плазматическое пропитывание интерстиция и стенок сосудов артериального типа. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Таким образом, выделена последовательность вовлечения ультраструктур почек в патологический процесс при АГ, заключающаяся в первостепенном повреждении тубулоинтерстициальной ткани, затем сосудов и в конечном итоге – клубочков.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, фиброз интерстиция, поражения почек.

ABSTRACT

THE AIM of the work was to study morphological alterations in the kidneys in patients with primary arterial hypertension (AH) at different stages of the developing process. **PATIENTS AND METHODS.** Under investigation there were 19 patients with AH in whom puncture nephrobiopsy was performed. Mean age of the patients was 33.4 ± 12.6 years. Among them there were 11 men (57.8%) and 8 women (42.2%). Mean duration of primary AH was 5.5 ± 4.5 years. The patients were divided into 3 groups according to the duration of AH. The first group included 7 patients with AH duration 1.4 ± 0.6 years. Mean age of the patients was 28.7 ± 10.2 years. The second group included 6 patients with AH duration 4.5 ± 0.9 years, mean age 42.3 ± 5.1 years. The third group consisted of 6 patients; duration of AH 11.3 ± 3.1 years. Mean age of the patients 40.2 ± 8.8 . **RESULTS.** Light optic microscopy has revealed in the 1st group alterations first of all in the interstitial tissue seen as periglomerular fibrosis. In the second group the morphological picture, the same as in the first one, was supplemented with thickenings and fibrosing of the walls of the arterial type vessels, proliferation of the smooth muscle layer of arterioles, signs of subatrophy and atrophy in the channels, greater symptoms of hydropic and protein dystrophy in nephrothelium. In the 3rd group there were signs of sclerosing glomerules, hypertrophy of intact glomerules, mild mesangial hypercellularity, paramesangial hyalinosis, marked periglomerular fibrosis, plasmatic impregnation of the interstitium and walls of the arterial type vessels. **CONCLUSION.** So, the sequence of the involvement of kidney ultrastructures in the pathological process was established in AH patients, consisting in a paramount lesion of the tubular interstitial tissue, then vessels and finally – glomerules.

Key words: arterial hypertension, interstitium fibrosis, lesions of the kidneys.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время артериальная гипертензия (АГ) является одной из основных причин развития терминальной хронической почечной недостаточности (ХПН). По данным USRDS в 2003 году в США

насчитывалось 28 319 больных, страдающих терминальной ХПН, развившейся по причине АГ [1]. Это составило 95,3 случая на 1 млн. населения, что выводит проблему АГ на второе место после сахарного диабета по причинам развития почечных

осложнений. Следует заметить, что за последние двадцать лет число больных с терминальной ХПН вследствие АГ возросло примерно в 3,6 раза. По данным Регистра Российского диализного общества АГ как причина развития терминальной ХПН у больных, получающих лечение гемодиализом, занимает лишь седьмое место [2]. Высокая распространённость АГ в популяции россиян, достигающая 39,2% среди мужчин и 41,1% среди женщин, заставляет обратить внимание не только на проблему гемодинамической коррекции данной патологии, но и на проблему поражения почек, как одного из важнейших органов в регуляции артериального давления (АД) и гомеостаза организма человека.

Морфологические изменения в почках при АГ были описаны ранее и представлены в работах отечественных и зарубежных нефрологов, среди которых Е.М. Тареев, Б.И. Шулуток, Н. Wardener, P. Zuccheli и многие другие [3–6]. Недостаточно хорошо изучены морфологические ультраструктурные изменения в почках на ранних стадиях развития АГ. До сих пор в России используется наравне с международной классификацией АГ градация болезни на стадии [7]. Однако поражение почек может отмечаться в самом начале болезни и не исключено, что является одним из факторов, предшествующих её развитию.

В связи с этим целью работы явилось изучение морфологических изменений в почках у больных с первичной АГ на разных стадиях развития процесса.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Из 400 заключений пункционных нефробиопсий, выполненных в Ростовском областном патолого-анатомическом бюро Ростовской областной клинической больницы за период с 2000 до 2006 г., было отобрано 19 протоколов больных первичной АГ. В большинстве случаев по данным анализа имела место гипердиагностика почечной патологии.

Средний возраст больных составил $33,4 \pm 12,6$ лет, среди них лиц мужского пола – 11 (57,8%), женского пола – 8 (42,2%). Средняя длительность первичной АГ составила $5,5 \pm 4,5$ лет. Все пациенты были разделены на 3 группы по длительности АГ. В 1-ю группу вошло 7 пациентов с длительностью АГ $1,4 \pm 0,6$ лет; средний возраст больных составил $28,7 \pm 10,2$ лет. Во 2-ю группу вошло 6 пациентов с длительностью АГ $4,5 \pm 0,9$ лет, средний возраст больных – $42,3 \pm 5,1$ лет. В 3-ю группу вошло 6 пациентов, длительность АГ составила $11,3 \pm 3,1$ лет; средний возраст больных – $40,2 \pm 8,8$ лет.

Всем больным проводили общеклиническое обследование по стандартным методикам. Нефробиоптаты изучали в световом и электронном мик-

роскопах, проводили иммуноморфологическое исследование. Для светооптического исследования один биоптат фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине в течение ночи. Для светооптического исследования срезы окрашивали гематоксилином-эозином, ставили ШИК-реакцию; наличие фиброза определяли при окраске трихромом по Масону и при серебрении по Джонсу-Моури. Для электронномикроскопического исследования фрагмент биоптата фиксировали в 2,5% глutarовом альдегиде, обрабатывали в соответствии с принятой технологией. Наличие в биоптатах почек иммуноглобулинов различных типов определяли прямым методом Кунса. Обработку антителами к IgA, IgG, IgM, мечеными ФИТЦ (НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи, Москва), производили в автомате Jung HistostainerIg (Leica), по прикладной программе. Наличие и интенсивность люминесценции исследовали в микроскопе DMRB (Leica).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При светооптической микроскопии в 1-й группе изменения коснулись прежде всего интерстициальной ткани, проявляющиеся перигломерулярным фиброзом. Также наблюдалась выраженная белковая и гидропическая дистрофия нефротелия (рис.

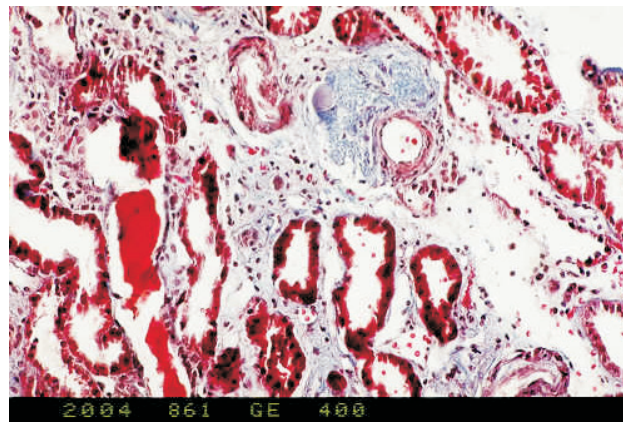


Рис. 1а. Почечный биоптат (светомикроскопия с окрашиванием по Масону $\times 100$).

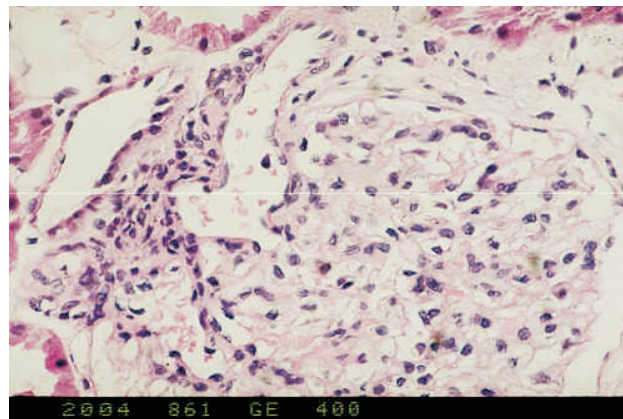


Рис. 1б. Почечный биоптат (светомикроскопия с окрашиванием гематоксилином-эозином $\times 400$).

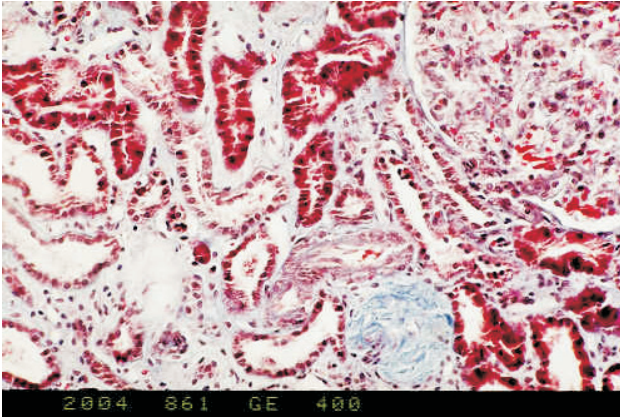


Рис. 2а. Почечный биоптат (светомикроскопия с окрашиванием по Массону $\times 200$).

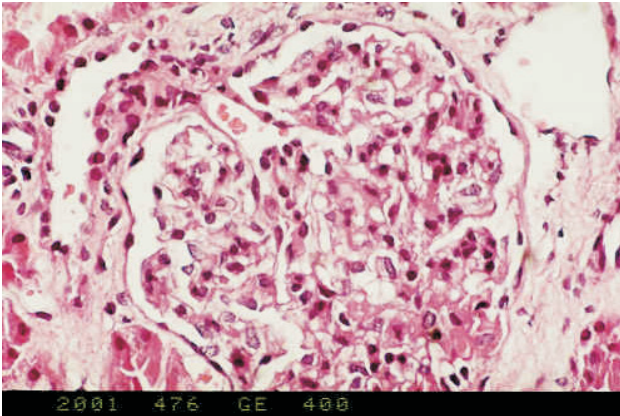


Рис. 2б. Почечный биоптат (светомикроскопия с окрашиванием гематоксилином-эозином $\times 400$).

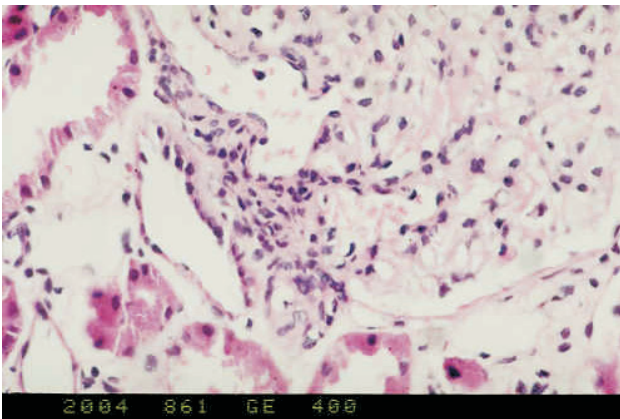


Рис. 3а. Почечный биоптат (светомикроскопия с окрашиванием гематоксилином-эозином $\times 400$).

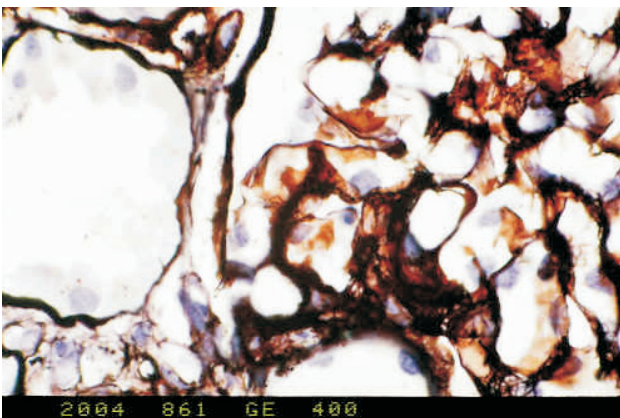


Рис. 3б. Почечный биоптат (светомикроскопия с серебрением по Джонсу-Моури $\times 400$).

1а, 1б). По мере увеличения срока давности первичной АГ в почках нарастали явления фиброобразования интерстиция с формированием рубцов, слабой мезангиальной пролиферации (рис. 2а, 2б).

Электронномикроскопически на ранних стадиях заболевания толщина базальных мембран была в пределах нормы. В течение первых 2-х лет заболевания появлялись мелкие редкие очажки сморщивания и склерозирования мезангия в осевых участках сосудистого пучка (рис. 3а, 3б).

Во 2-й группе в морфологической картине к уже вышеописанным изменениям присоединились явления утолщения и фиброобразования стенок сосудов артериального типа, пролиферация гладкомышечного слоя артериол, признаки субатрофии и атрофии в канальцах, усилились явления гидропической и белковой дистрофии в нефротелии (рис. 4а, 4б).

Электронномикроскопически наблюдалась слабая пролиферация мезангиоцитов, складчатость базальных мембран. В интерстициальной ткани отмечалась картина фиброза с рубцовыми изменениями. В нефротелии канальцев наблюдались признаки гидропической дистрофии, в артериолах – атрофия и фиброзирование мышечного слоя, разрыхление, складчатость базальных мембран. В двух случаях отмечается узловая трансформация

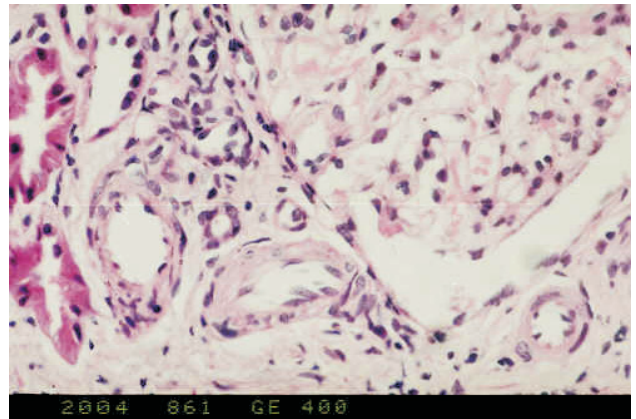


Рис. 4а. Почечный биоптат (светомикроскопия с окрашиванием гематоксилином-эозином $\times 400$).

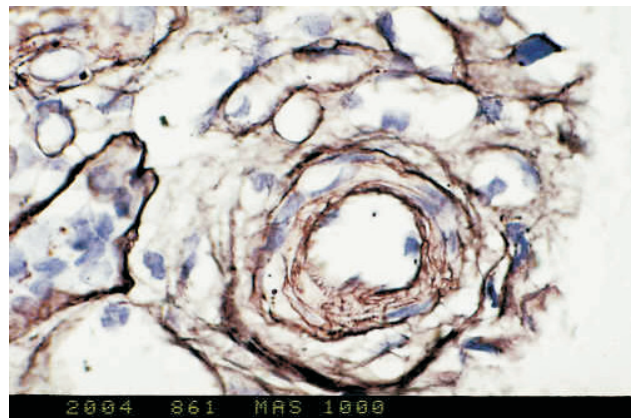


Рис. 4б. Почечный биоптат (светомикроскопия с серебрением по Джонсу-Моури $\times 400$).

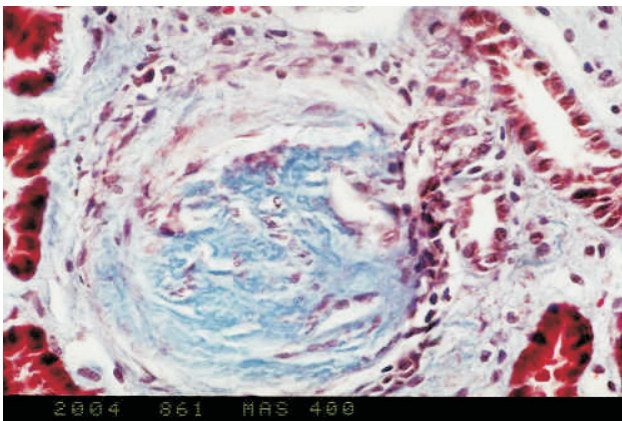


Рис. 5а. Почечный биоптат (светомикроскопия с окрашиванием по Массону $\times 200$).

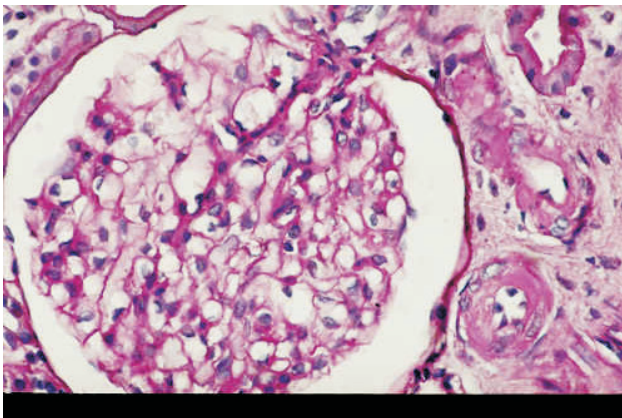


Рис. 5б. Почечный биоптат (светомикроскопия с окрашиванием гематоксилином-эозином $\times 400$).

гломерулярных базальных мембран парамезангиально.

В 3-й группе светооптически наблюдались признаки склерозирования клубочков, сохранные клубочки значительно гипертрофированы, наблюдалась умеренная мезангиальная гиперклеточность и парамезангиальный гиалиноз, выраженный перигломерулярный фиброз, плазматическое пропитывание интерстиция и стенок сосудов артериального типа (при АГ длительностью 18 лет наблюдалось резкое утолщение стенок сосудов артериального типа за счет гипертрофии гладкомышечных волокон в мышечном слое и фиброза всех слоев), субатрофия и атрофия канальцев, белковая дистрофия нефротелия (рис. 5а, 5б).

Электронномикроскопически отмечалась пролиферация мезангиоцитов с очаговым склерозом мезангиальных отростков, перигломерулярный склероз (гиалиноз), плазматическое пропитывание интерстициальной ткани, утолщение базальных мембран (до 350 – 400 нм при АГ длительностью 18 лет).

ОБСУЖДЕНИЕ

Т.о. изменения в почках на ранних стадиях первичной АГ носят не только функциональный, но и структурный характер. Наиболее чувствительны-

ми к патогенным влияниям АГ оказались компоненты тубуло-интерстициальной ткани, а именно канальцы и участки интерстиция. В последующем присоединяются процессы сосудистого ремоделирования, проявляющиеся утолщением сосудистой стенки. И только при длительном течении первичной АГ в процесс вовлекаются клубочки с развитием гломерулосклероза и гиалиноза. Наличие структурных патологических изменений в почках на ранних стадиях болезни ставит под сомнение целесообразность выделения стадий АГ. Существующие подходы к стратификации риска с выделением поражения органов-мишеней и ассоциированных клинических состояний наряду с выделением степени АГ являются оптимальными с точки зрения патоморфологических изменений в почках при АГ. Раннее вовлечение почек в патологический процесс при АГ позволяет предполагать развитие ультраструктурных изменений в органе параллельно формированию гемодинамических расстройств, определяющих повышение АД. Наличие патоморфологических изменений во всех биоптатах заставляет думать о том, что, несмотря на редко диагностируемые клинические проявления почечной патологии при АГ, ультраструктурные изменения почек являются облигатным признаком болезни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Выявлена последовательность изменений ультраструктуры почки при АГ, заключающаяся в первостепенном повреждении тубуло-интерстициальной ткани, затем сосудов и в конечном итоге – клубочков.

2. Установлено, что патоморфологические изменения в почках наблюдаются уже на начальных стадиях АГ, что предполагает облигатное вовлечение почки в патологический процесс.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Incidence of reported ESRD 2005. Annual Data Report. U.S. 2005; 284
2. Бикбов БТ, Томилина НА. О состоянии заместительной терапии больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 1998-2003 гг. *Нефрология и диализ* 2005;(3): 204–265
3. Тареев ЕМ. Нефриты. Медгиз, М, 1958: 666
4. Шулушко БИ. Нефрология 2002. Современное состояние проблемы. Ренкор, СПб, 2002: 780
5. de Wardener H, MacGregor G. Dahl's hypothesis that a saluretic substance may be responsible for a sustained rise of arterial blood pressure its possible role in essential hypertension. *Kidney Int* 1980;18:1–9
6. Zuccheli P, Zuccala A. Hypertension and renal dysfunction. *Current Opin. Nephrol Hypert* 1996; 5: 97–101
7. Национальные рекомендации по профилактике, диагностике и лечению артериальной гипертонии. М, ВНОК; 2004

Поступила в редакцию 17.04.2007 г.

Принята в печать 22.06.2007 г.

© М.М.Волков, О.А.Дегтерева, Е.В.Шевякова, 2007
УДК 616.1:616.71-003.84-02:616.61-008.64-036.12-085.38

М.М. Волков, О.А. Дегтерева, Е.В. Шевякова

ФАКТОРЫ, СВЯЗАННЫЕ С КАЛЬЦИНАЦИЕЙ КЛАПАННОГО АППАРАТА СЕРДЦА У ПАЦИЕНТОВ НА ХРОНИЧЕСКОМ ГЕМОДИАЛИЗЕ

M.M. Volkov, O.A. Degtereva, E.V. Shevyakova

FACTORS ASSOCIATED WITH HEART VALVE CALCIFICATION IN PATIENTS ON CHRONIC HEMODIALYSIS

Кафедра пропедевтики внутренних болезней, Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П.Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: определить распространенность и влияние кальцинации митрального (МК) и аортального (АК) клапанов сердца на его функцию в обследованной группе диализных пациентов и установить факторы, связанные с кальцинозом МК и АК, а также наличие связей кальциноза клапанов с уремической остеоодистрофией. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Обследован 131 пациент с выполненной доплер-эхокардиографией (доплер-ЭхоКГ), мужчин – 75, женщин – 55, в возрасте 51,7±12,6 лет, получавших гемодиализ (ГД) в среднем 77,7±75,6 мес. ИБС выявлена у 55,6% пациентов, сердечная недостаточность (СН) у 50,0% пациентов. Всем больным кроме обычных исследований определяли интактный паратиреоидный гормон (ПТГ), биохимические маркеры воспаления (фибриноген и С-реактивный белок). Состояние АК и МК клапанов по данным доплер-ЭхоКГ оценивали как норму, уплотнение, кальциноз (клапанного кольца или створок). Определяли также наличие стеноза, регургитации АК и МК. Измеряли толщину комплекса интима-медия (КИМ) сонных артерий. У 88 пациентов выполнено суточное мониторирование артериального давления (АД) и у 100 – мониторирование ЭКГ. У 63 пациентов определена минеральная плотность костей (МПК) трех отделов скелета (поясничных позвонков, проксимального отдела бедра и предплечья) методом двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (ДЭРА) с оценкой по Т-критерию и Z-критерию. Значения МПК более -1 считались нормальными, от -1 до -2,5 – остеопенией (умеренное снижение МПК), менее -2,5 – остеопорозом (значительное снижение МПК). **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Кальциноз клапанов выявлен у 38,9% пациентов: изолированный кальциноз АК – у 3,8%, МК – у 13,0%, обоих клапанов – у 22,1% пациентов. У пациентов с кальцинозом АК чаще наблюдался стеноз этого клапана ($\chi^2=19,8$; $p<0,001$) и была более выражена регургитация ($t=3,16$; $p=0,003$). Кальциноз МК также способствовал стенозированию ($\chi^2=17,27$; $p<0,0001$) и регургитации ($t=2,11$; $p=0,038$). При сравнении групп пациентов, различающихся по наличию кальциноза клапанов, обнаружено, что у пациентов с кальцинозом клапанов был старше возраст ($Z=4,02$; $p<0,001$), больше длительность диализного лечения ($Z=2,93$; $p=0,0034$), чаще присутствовала ИБС ($\chi^2=6,02$; $p=0,014$), СН ($\chi^2=3,85$; $p=0,05$), были выше уровни ПТГ ($Z=2,09$; $p=0,037$) и щелочной фосфатазы ($Z=2,93$; $p=0,0034$), больше толщина КИМ ($Z=2,45$; $p=0,014$), ниже значения МПК предплечья ($Z=1,98$; $p=0,048$), выше значения С-реактивного белка ($Z=2,50$; $p=0,016$). Кроме того, у пациентов с кальцинацией клапанов был больше размер левого предсердия ($Z=3,67$; $p=0,001$), выше скорость потоков через МК ($Z=4,24$; $p<0,001$) и АК ($Z=3,79$; $p<0,001$). **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Кальциноз АК и МК сердца выявлен у трети обследованных пациентов. Преобладает сочетанная кальцинация этих клапанов. Кальцинация клапанов чаще наблюдалась у пациентов старшего возраста, с более продолжительным лечением на ГД, более выраженным гиперпаратиреозом, воспалительными изменениями, атеросклерозом. Впервые обнаружена связь между кальцинозом клапанов и снижением МПК. Кальцинация клапанов сочеталась с большей частотой ИБС, СН, дилатацией левого предсердия и ускорением потоков через МК и АК.

Ключевые слова: гемодиализ, кальциноз клапанов сердца, гиперпаратиреоз, минеральная плотность костей, двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to determine the spread and influence of calcification of the mitral (MV) and aortal (AV) valves of the heart on its function in a group of examined dialysis patients and to find the factors associated with calcinosis of MV and AV, and connections of valve calcification with uremic osteodystrophy. **PATIENTS AND METHODS.** Under investigation there were 131 patients after Doppler-Echo CG, aged 51.7±12.6 years treated by hemodialysis (HD) during 77.7±75.6 months. IHD was found in 55.6% of the patients, heart failure (HF) in 50.0%. Intact parathyroid hormone (PTH), biochemical markers of inflammation (fibrinogen and C-reactive protein) were determined in all the patients in addition to ordinary investigations. The state of MV and AV according to Doppler-Echo CG were estimated as the norm, infiltration, calcinosis (of valve annulus or cusps). The presence of stenosis, regurgitation of MV and AV were also determined. The thickness of the intima-media complex (IMC) of the carotid artery was measured. The 24 hours' monitoring of arterial pressure was performed in 88 patients and ECG monitoring in 100 patients. Bone mineral density (BMD) of three parts of the skeleton (lumbar vertebra, proximal part of the femur and forearm) was measured in 63 patients by the method of dual energy X-ray absorptiometry estimated by T-criterion and Z-criterion. The BMD value more than -1 was considered normal, from -1 to -2.5 as osteopenia (mild decrease of MBD), less than -2.5 as osteoporosis (considerably decreased MBD). **RESULTS.** Calcinosis of the valves was detected in 38.9% of the patients: isolated AV calcinosis – in 3.8%, MV – in 13.0%, both valves calcinosis – in 22.1% of the patients. Stenosis of that valve was more often detected in

patients with AV calcinosis ($\chi^2 = 19.8$; $p < 0.001$) and they had more pronounced regurgitation ($t = 3.16$; $p = 0.003$). MV calcinosis also promoted stenosing ($\chi^2 = 17.27$; $p < 0.0001$) and regurgitation ($t = 2.11$; $p = 0.038$). A comparison of the groups of patients which differed in the presence of valvular calcinosis has shown that patients with valvular calcinosis were older ($Z = 4.02$; $p < 0.001$), had longer dialysis treatment ($Z = 2.93$; $p = 0.0034$), had IHD more often ($\chi^2 = 6.02$; $p < 0.014$), HF ($\chi^2 = 3.85$; $p = 0.05$), higher levels of PTH ($Z = 2.09$; $p = 0.037$) and alkaline phosphatase ($Z = 2.93$; $p = 0.0034$), greater IMC thickness ($Z = 2.45$; $p = 0.014$), less values of forearm MBD ($Z = 1.98$; $p = 0.048$), higher values of C-reactive protein ($Z = 2.50$; $p = 0.016$). In addition, patients with valvular calcification had greater size of the left atrium ($Z = 3.67$; $p = 0.001$), higher flow rate through MV ($Z = 4.24$; $p < 0.001$) and AV ($Z = 3.79$; $p < 0.001$).

CONCLUSION. Calcinosis of MV and AV of the heart was diagnosed in one third of the examined patients. A combination of calcification of the valves prevailed. Calcification of the valves was more often observed in older patients, with longer HD treatment, more pronounced hyperparathyrosis, inflammatory alterations, atherosclerosis. An association of valvular calcinosis with less BMD was found for the first time. Calcification of the valves was combined with greater frequency of IHD, HF, dilatation of the left atrium and speeding up the flows through AV and MV.

Key words: hemodialysis, heart valve calcinosis, hyperparathyrosis, bone mineral density, dual energy X-ray absorptiometry.

ВВЕДЕНИЕ

В патологии сердечно-сосудистой системы, являющейся основной причиной смерти пациентов на гемодиализе (ГД) [1,2], важное место занимает кальцинация клапанов сердца, которая встречается значительно чаще, чем в общей популяции. Способствует развитию кальциноза клапанов старения диализной популяции, увеличения длительности гемодиализного лечения, доли пациентов с сахарным диабетом. Клапанный кальциноз может приводить к формированию пороков сердца [3], гипертрофии миокарда [3] и дилатации левого желудочка [4,5], сердечной недостаточности [5], аритмиям и нарушению проводимости [6–10], инфекционному эндокардиту [11]), повышает заболеваемость и смертность пациентов [12,13]. Частота кальцинации клапанов, по литературным источникам, может зависеть от возраста пациентов [6,7,4,14,15], длительности диализной терапии [6,7,8,16], гиперфосфатемии [14,15], гиперпаратиреоза [15,8], нарушения липидного баланса [14, 16], артериальной гипертензии [6,7,9], хронического воспаления [15] и других факторов. Несмотря на многочисленные исследования, литературные данные как о влиянии факторов фосфорно-кальциевого баланса, так и о структурном ремоделировании и функциональных изменениях сердца остаются противоречивыми. Не изучена также связь кальцинации клапанов с другим важным аспектом фосфорно-кальциевого дисбаланса – уремической остеоидистрофией при хронической болезни почек (ХБП).

Цель исследования: определить распространенность и влияние кальцинации митрального клапана (МК) и аортального клапана (АК) сердца на его функцию в обследованной группе диализных пациентов и установить факторы, связанные с кальцинозом МК и АК, а также наличие связей кальциноза клапанов с уремической остеоидистрофией.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование включен 131 пациент с выполненным доплер-эхокардиографическим (доплер-

ЭхоКГ) исследованием. Средний возраст пациентов составлял $51,7 \pm 12,6$ лет (19-72), длительность ГД – $77,7 \pm 75,6$ мес. (3-216), соотношение мужчин/женщин – 75/55. Больных хроническим гломеруло-нефритом было 59,7%, хроническим пиелонефритом и тубулоинтерстициальными заболеваниями – 10,7%, поликистозом почек – 7,6%, диабетической нефропатией – 5,3%, гипертонической болезнью – 6,9%, системными заболеваниями соединительной ткани – 9,9%. ИБС диагностирована клинически и по данным суточного мониторинга ЭКГ у 55,6% пациентов. Сердечная недостаточность (СН) по классификации NYHA присутствовала у 50,0% больных. Пациентам определяли азотистые показатели, адекватность ГД по КТ/V, общий кальций, неорганический фосфор сыворотки до и после ГД, фосфорно-кальциевое произведение, щелочную фосфатазу (ЩФ), интактный паратгормон (ПТГ), маркеры синтеза (остеокальцин) и резорбции костей (продукты деградации коллагена 1 типа – С-телопептиды), биохимические маркеры воспаления (фибриноген и С-реактивный белок). У 88 пациентов выполнено суточное мониторирование артериального давления (АД) и у 100 – мониторирование ЭКГ. Для определения минеральной плотности костей (МПК) у 63 выполнена двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия трех отделов скелета (поясничных позвонков, проксимального отдела бедра и предплечья) на аппарате Hologic 4500. Для оценки МПК использовали T-критерий (число среднеквадратических отклонений от пиковой МПК) и Z-критерий (число среднеквадратичных отклонений от МПК группы здоровых лиц того же возраста). Значения МПК более -1 считались нормальными, от -1 до -2,5 – остеопенией (умеренное снижение МПК), менее -2,5 – остеопорозом (значительное снижение МПК). Нормальная МПК, остеопения и остеопороз выявлены у 37,7%, 31,1% и 31,1 % пациентов соответственно. Данные лабораторных и инструментальных обследований пациентов показаны в табл. 1.

Трансторакальная доплер-эхоКГ выполнена на

Таблица 1
**Лабораторные и инструментальные
данные пациентов**

Показатель	$\bar{X} \pm m$
Креатинин сыворотки до ГД, ммоль/л	1,01±0,23
Мочевина сыворотки до ГД, ммоль/л	30,6±6,9
Общий кальций сыворотки до ГД, ммоль/л	2,28±0,24
Неорганический фосфор до ГД, ммоль/л	1,99±0,62
Интактный ПТГ, пг/мл	816±2837
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	174±308
КТ/V по Daugirdas	1,39±0,31
Са x P, ммоль ² /л ²	4,58±1,46
Фибриноген, г/л	3,82±1,05
С-реактивный белок, мг/л	17,7±23,4
МПК поясничных позвонков, Т-критерий	-1,11±1,55
МПК проксимального отдела бедра, Т-критерий	-1,15±1,15
МПК предплечья, Т-критерий	-1,72±1,70

ультразвуковым сканере Vivid7 Pro (GE), обладающем анатомическим М-режимом, с использованием датчика 3S в положении пациента на левом боку по стандартной методике. Измеряли толщину межжелудочковой перегородки и задней стенки левого желудочка в диастолу, определяли конечный диастолический и конечный систолический размер левого желудочка (ЛЖ), диаметр левого предсердия, максимальное давление в легочной артерии. Глобальную систолическую функцию ЛЖ оценивали по показателю фракции выброса, определяемой методом Simpson, нижней границей которой согласно рекомендациям Американского общества эхокардиографии считается 55% [17]. Диастолическую функцию ЛЖ исследовали стандартно по трансмитральному кровотоку: в импульсно-волновом доплеровском режиме оценивали скорости раннего (пик E, см/с) и позднего (пик A, см/с) диастолического наполнения ЛЖ и их соотношение, время замедления волны раннего диастолического наполнения ЛЖ (DT, мс); в непрерывно-волновом доплеровском режиме определяли время изоволюмического расслабления (IVRT, мс). Согласно критериям M.J.Garcia и соавт. [18] 1 тип диастолической дисфункции ЛЖ, или нарушенное расслабление, диагностировали при: $E/A < 1$, $DT > 220$ мс, $IVRT > 100$ мс; 2 тип диастолической дисфункции ЛЖ, или псевдономальное наполнение, при: $E/A = 1-2$, $DT = 150-220$ мс, $IVRT < 100$ мс; 3 тип, или рестриктивное наполнение, при: $E/A > 2$, $DT < 150$ мс, $IVRT < 60$ мс. Массу миокарда левого желудочка (ММЛЖ) рассчитывали по формуле R.Devereux. Определяли индекс массы миокарда левого желудочка (как отношение ММЛЖ к площади поверхности тела). Состояние клапанного аппарата сердца оценивали визуально качественно в В-режиме, при этом различали нормальные или уплотненные структуры АК и МК, а также определяли наличие и степень кальцификации их створок

и фиброзных колец полуколичественным методом. Степень 1 – единичные вкрапления кальция (усиленный эхосигнал от утолщенных и фибрированных створок, единичные вкрапления кальция диаметром до 3 мм у основания и в толще створок, раскрытие створок не уменьшено); Степень 2 – множественные кальцинаты (кальциевые конгломераты диаметром более 3 мм у основания и свободного края створок без перехода на фиброзное кольцо). Степень 3 – распространенный кальциноз (кальциевые конгломераты расположены по всей поверхности створок, кальциноз фиброзного кольца и соседних структур). Стенозы АК и МК диагностировались при величине площади отверстий менее 2,5 см² и 4,0 см² соответственно. Определяли наличие и выраженность клапанной регургитации. Толщину комплекса интима-медиа (КИМ) сонных артерий измеряли на 3-х уровнях и учитывали средние значения КИМ.

Статистическую обработку материала выполняли с использованием статистического пакета Statistica v 6.0. Применяли методы параметрической (t-критерий Стьюдента для сравнения показателей в группах) и непараметрической статистики (ранговые корреляции Спирмена, U-критерий Вилкоксона-Манна-Уитни, дискриминантный анализ, χ^2 -критерий Пирсона). Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (об отсутствии различий и влияний) принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение пациентов по состоянию АК и МК (норма, уплотнение, кальциноз) показано на рис. 1 и 2, по частоте кальциноза клапанов (АК, МК и обоих клапанов) на рис. 3.

Стеноз АК выявлен всего у 38 пациентов, что составляет 29,0% обследованных пациентов. При

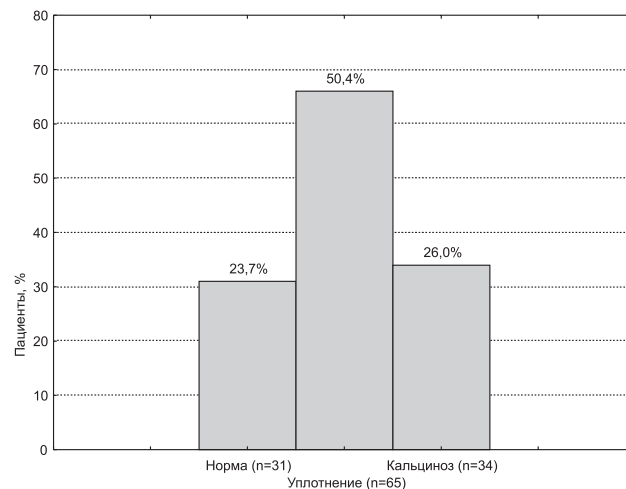


Рис. 1. Распределение пациентов по состоянию аортального клапана.

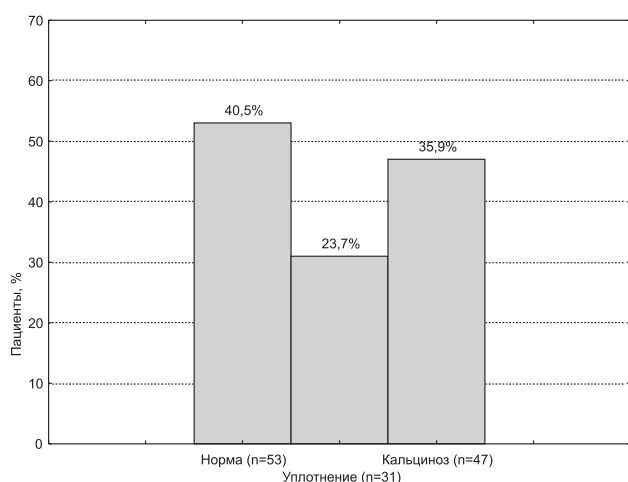


Рис. 2. Распределение пациентов по состоянию митрального клапана.

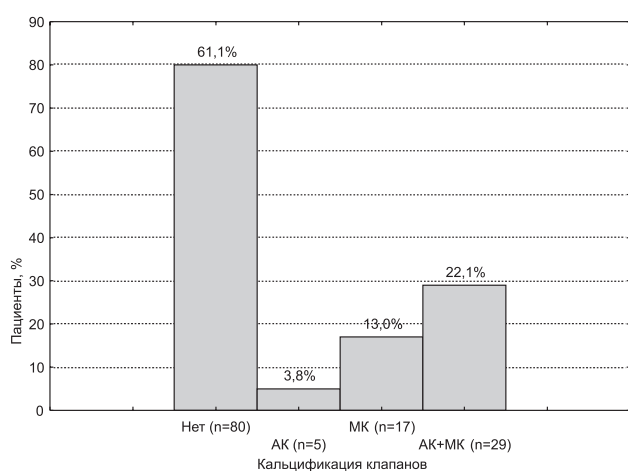


Рис. 3. Распределение пациентов по наличию кальциноза сердечных клапанов.

наличия кальциноза АК стеноз обнаружен у 58,8% пациентов, без кальциноза стеноз наблюдался значительно реже – только у 18,6% ($\chi^2=19,8$; $p<0,001$). У 18 больных стеноз АК был обусловлен склеродегенеративными фибротическими изменениями без кальцинации. Стеноз митрального клапана выявлен у 19,1% пациентов и только при наличии кальциноза МК. Таким образом, при кальцинозе МК стенозирование клапана было чаще, чем без кальциноза ($\chi^2=17,27$; $p<,0001$). Кальцинация АК по сравнению МК чаще приводила к стенозированию соответствующего клапана ($\chi^2=13,5$; $p=0,0002$).

При сравнении групп, различающихся по наличию кальциноза МК, выраженность регургитации была больше в группе с кальцинозом ($t=2,11$; $p=0,038$). У пациентов с кальцинозом АК была больше степень регургитации как на АК ($t=3,16$; $p=0,003$), так и на МК ($t=2,87$; $p=0,006$).

Для определения факторов, связанных с кальцинозом клапанов сердца, сравнили клинические, биохимические и доплер-ЭхоКГ показатели в группах пациентов с наличием кальцинацией клапанов и без нее (табл. 2).

У пациентов с кальцинозом сердечных клапанов был старше возраст, больше длительность гемодиализного лечения, больше выражен гиперпаратиреоз (выше значения ПТГ и ЩФ), выше уровень СРБ, больше толщина КИМ сонных артерий, ниже МПК предплечья. По данным доплер-ЭхоКГ сердца отмечались большие градиенты и потоки через МК и АК, размеры левого предсердия. Не выявлено различий по уровням фосфора и производству Са х Р, фибриногену. Отмечалась тенденция к более высоким значениям кальция сыворотки в группе пациентов с кальцинозом клапанов.

По данным дискриминантного анализа ($n=76$) на кальцификацию независимо влияли ($F=8,57$; $p<0,0001$): возраст ($p=0,001$), длительность ГД ($p=0,007$) и уровень ПТГ ($p=0,02$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Патология сердечно-сосудистой системы является основной причиной смерти пациентов на ГД [1, 2]. Важное место в заболеваемости и смертности диализных пациентов занимает кальцинация сердечных клапанов [12, 13], которая в последнее время встречается все чаще. В отличие от общей популяции, у диализных пациентов кальциноз клапанов развивается значительно чаще и наблюдается у лиц молодого возраста. По данным S. Ribeiro и соавт. [9], частота кальциноза МК у диализных пациентов составляла 44,5% и только 10% в обычной популяции, АК – 52% и 4,3% соответственно. Клапанный кальциноз нарастает по мере прогрессирования ХБП. S. Mazzaferro и соавт. [9] во время гемодиализного лечения выявили кальцификацию кольца МК у 38,6% пациентов, в додиализном периоде ХБП у 16,4% и только у 8,9% в общей популяции. По другим данным, кальцификация МК в додиализном периоде присутствовала только у 5,6% пациентов, а во время диализного лечения у 16,7% пациентов [19]. K. Vijaik и соавт. [20] обнаружили кальцификацию клапанов до ГД 4,8% пациентов, а у диализных больных у 28%.

В обследованной группе пациентов мы выявили кальциноз клапанов у 38,9% пациентов: изолированный кальциноз МК – у 13,0% пациентов, АК – у 3,8% и обоих клапанов – у 22,1%. Таким образом, кальциноз МК (35,1%) наблюдался чаще АК (25,9%). Обращает на себя внимание, что кальциноз обоих клапанов встречался значительно чаще изолированного поражения АК или МК. Данные авторов о частоте кальцинации клапанов различаются. Частота кальциноза АК в диализной популяции варьирует от 33 до 78% пациентов [9, 14, 21], МК – от 31% до 46% [4, 5, 7, 8, 14, 21]. По данным одних авторов, кальциноз МК встречается чаще,

Показатели в группах пациентов, различающихся по наличию кальциноза клапанов

Показатель	Без кальциноза клапанов (n=80)	С кальцинозом клапанов (n=51)	Z (для U-критерия)	p
Возраст, годы	48,1±12,5	56,9±10,0	4,07	<0,001
Длительность ГД, мес	59,5±63,3	104,5±85,3	2,93	0,0034
Наличие ИБС, %	47,4	69,2	$\chi^2=6,02$	0,014
Сердечная недостаточность, %	43,1	61,2	$\chi^2=3,85$	0,05
Наличие сахарного диабета, %	6,7	5,8	$\chi^2=0,18$	p>0,1
Систолическое АД, мм рт.ст	140,0±21,7	142,2±27,2	0,07	p>0,1
Диастолическое АД, мм рт.ст	82,0±13,1	79,0±13,9	0,95	p>0,1
Общий кальций сыворотки до ГД, ммоль/л	2,24±0,25	2,32±0,24	1,87	0,061
Неорганический фосфор сыворотки до ГД, ммоль/л	2,04±0,61	1,91±0,65	1,11	>0,1
Са x P, ммоль ² /л ²	4,57±1,39	4,57±1,57	0,07	>0,1
ЩФ, МЕ/л	155,6±288,8	204,4±337,5	2,93	0,0034
ПТГ, пг/мл	289±296	489±456	2,09	0,037
Фибриноген, г/л	3,91±1,16	3,73±1,71	0,13	>0,1
C-реактивный белок, мг/л	12,6±16,2	23,6±28,8	2,50	0,016
КИМ, мм	0,67±0,20	0,77±0,19	2,45	0,014
МПК предплечья, Т-критерий	-1,43±1,49	-2,35±1,97	1,98	0,048
МПК бедра, Т-критерий	-0,98±1,11	-1,40±1,19	1,28	>0,1
МПК позвонков, Т-критерий	-1,00±1,57	-1,27±1,54	0,67	>0,1
Левое предсердие, диам, мм	42,1±5,69	46,4±6,07	3,67	0,001
Макс. поток через МК, м/с	0,99±0,20	1,28±0,45	4,24	<0,001
Макс. градиент на МК, мм рт.ст.	4,08±1,68	7,14±6,29	4,18	<0,001
Макс. поток через АК, м/с	1,80±0,39	2,21±0,76	3,79	<0,001
Макс. градиент на АК, мм рт.ст	13,50±7,24	21,61±18,85	3,78	<0,001

Таблица 2 влияния длительной [6,7,9] и высокой гипертензии [5] до начала диализного лечения на кальцинацию клапанов, выявляемую у диализных пациентов. Но роль гипертензии подтверждена не всеми авторами [4,9]. Многие исследователи показали негативное влияние гиперфосфатемии на кальцинацию клапанов сердца [14, 15], причем в большей степени МК [5, 6, 7, 16]. Есть также данные, что высокий уровень фосфора ускоряет кальциноз МК, но не влияет на АК [6,7]. Имеются сведения, что высокое значение произведения Са x P является фактором риска кальцинации клапанов сердца во время диализного лечения [14].

чем АК (46% против 33%) [21], по данным других – преобладает кальциноз АК (52% против 44,5%) [9]. В.Ю. Шило и соавт. [4] выявили кальциноз МК у 33,1%, АК – 19,7% и обоих клапанов – в 13,3%, причем с учетом начального кальциноза без отложения в клапанах сердца доля пациентов с кальцификацией структур сердца составила 70,7%. По данным Г.В.Волгиной и соавт. [6,7], кальциноз АК выявлен у 26,7%, МК – 38,6%. Таким образом, кальциноз клапанов на ГД встречается часто, а колебания частоты, на наш взгляд, вероятно, связаны с особенностями исследуемых популяций.

По нашим данным частота кальциноза клапанов увеличивалась с возрастом пациентов, что соответствует данным большинства авторов [4, 6, 14, 15]. У пациентов старшего возраста чаще наблюдалась кальцинация как АК [6, 7, 9, 22], так и кольца МК [9, 8].

Значительное влияние на кальциноз сердечных клапанов оказывает длительность диализной терапии, что подтверждают наши данные. При этом у диализных пациентов чаще поражается МК [6, 7, 8, 16], развивается стеноз АК [22]. Лишь в отдельных работах не обнаружено связи между кальцификацией МК и длительностью лечения [5].

Мы не выявили влияние артериальной гипертензии на частоту клапанного кальциноза. Вклад гипертензии в кальцинацию клапанов считается неоднозначным. Имеются сведения о негативном

этого показателя с кальцинозом МК [6,7,9] и АК [22] развитием стеноза АК [22] и кальцинозом кольца МК [16]. В обследованной группе пациентов мы не обнаружили связи между уровнями фосфора, фосфорно-кальциевого произведения и кальцинозом клапанного аппарата сердца, что соответствует данным В.Ю. Шило и соавт. [4]. Нам представляется, что отсутствие этой связи укладывается в рамки современной теории кальцификации сосудов и клапанов. Эта теория кардинально отличается от прежней, где кальцификация рассматривалась как пассивный процесс преципитации фосфата кальция. В настоящее время доказано, что под влиянием неблагоприятных факторов при ХБП происходит трансформация гладкомышечных клеток в остеобласт-подобные, синтезирующие субстанции, напоминающие кость, причем этот процесс является регулируемым и зависит от многих факторов [23, 24].

Некоторые исследователи не выявили влияния гиперпаратиреоза (ГПТ) на кальцинацию клапанов [4,6,7,9]. По нашим сведениям, в группах пациентов с кальцинозом и без него отмечались значительные достоверные различия по уровню интактного ПТГ и ЩФ (табл. 2), что свидетельствует о значимости вторичного ГПТ в развитии кальцинации, причем это влияние не связано с изменением уровней Са и Р, присущих ГПТ. Мы не обнаружили значимой связи между уровнями Са и Р сыворот-

ки с кальцинозом клапанов, что позволяет предположить непосредственное влияние самого ПТГ. По данным ряда исследователей, вторичный ГПТ является фактором риска кальциноза клапанного аппарата сердца [8, 15], но эту точку зрения не разделяют другие авторы.

Мы не выявили связи между дислипидемией и кальцинозом клапанов, хотя есть сведения, что высокий уровень холестерина липопротеидов низкой плотности ускоряет кальциноз клапанов [14, 16].

Мы обнаружили связь между биохимическими показателями, отражающими воспалительный стресс (уровнем С-реактивного протеина), и кальцинозом клапанов. В литературе также имеются сведения о роли воспаления в кальцификации клапанов. Так, у пациентов на перитонеальном диализе с кальцификацией клапанов был выше уровень С-реактивного белка, фибриногена, ниже альбумин крови [15].

Частота кальциноза клапанов коррелирует с наличием ИБС, что подтверждается в ряде работ [6, 7, 25] и соответствует нашим данным. Обнаруженная связь между толщиной КИМ и кальцинозом клапанов свидетельствует о связи между кальцификацией и выраженностью атеросклероза. Большая частота периферической сосудистой кальцификации при кальцинозе МК [9] и АК [6] отражает тесную связь кальцификации клапанов и сосудов. По данным литературы, сахарный диабет увеличивает вероятность клапанной кальцификации [14], но на нашем материале этой зависимости обнаружить не удалось.

Кальцификация клапанов часто сопровождается развитием стенозов (особенно АК), митральной и аортальной недостаточности с повышением максимальных скоростей потоков и градиентов давления на МК и АК, что изменяет внутрисердечную гемодинамику и приводит, по нашим данным, к дилатации левого предсердия. Нами не обнаружено связи между кальцификацией клапанов и развитием гипертрофии миокарда и дилатации ЛЖ. Очевидно, гипертрофия ЛЖ обусловлена многими факторами помимо кальциноза клапанов.

По литературным данным, есть сведения о корреляции кальциноза обоих клапанов (АК и МК) с аритмиями [6,7]. Чаше наблюдались аритмии и нарушения проводимости при кальцификации кольца МК [8, 9, 10]. Мы не обнаружили влияния кальцификации клапанов на развитие аритмий по данным суточного мониторирования ЭКГ.

На наш взгляд, наиболее интересными являются обнаруженные нами связи между кальцинозом клапанов и снижением МПК скелета. Так, в группе пациентов с кальцинированными клапанами сер-

дца отмечалась более низкая МПК предплечья по данным ДЭРА. Данных о подобной связи в группе диализных пациентов в доступной литературе не обнаружено. Есть лишь данные о связи выраженности остеопении пяточной кости, определяемая ультразвуковым методом и частотой сердечно-сосудистых осложнений [26]. Вероятной причиной этой связи костной патологии и кальциноза сердечных клапанов является наличие общих факторов риска развития этих состояний: пожилого возраста, длительного диализного лечения и высокого уровня ПТГ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кальцинация аортального и митрального клапанов в обследованной нами группе выявлена более чем у трети ГД пациентов и связана с многочисленными факторами: длительностью гемодиализной терапии, возрастом пациентов, признаками гиперпаратиреоза. Нами впервые выявлена связь между низкой МПК и кальцинозом клапанов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD et al. Clinical and echocardiographic disease in end-stage renal disease: prevalence, associations and prognosis. *Kidney Int* 1995; 47: 186-192
2. Levey AS, Beto JA, Coronado BE et al. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: What do we know? What do we need to learn? Where do we go from here? *Am J Kid Dis* 1998; 32: 853-906
3. Ventura JE, Tavella N, Romero C et al. Aortic valve calcification is an independent factor of left ventricular hypertrophy in patients on maintenance haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(10):1795-1801
4. Шило ВЮ, Гендлин ГЕ, Перекокин ЮН и др. Кальциноз структур сердца у больных на программном гемодиализе: связь с факторами риска и показателями внутрисердечной гемодинамики. *Нефрология и диализ* 2003; 5(1) [приложение 1]:58-66
5. Huting J. Mitral valve calcification as an index of left ventricular dysfunction in patients with end-stage renal disease on peritoneal dialysis. *Chest* 1994;105(2):383-388
6. Волгина ГВ, Перепеченых ЮВ, Бикбов БТ. Кальцификация клапанов сердца у больных с терминальной хронической почечной недостаточностью. *Нефрология и диализ* 2001; 3(1)
7. Volgina G, Tomilina N, Lebedev S et al. Cardiac valve calcification in dialysis patients. *Nephrol Dial Transpl* 2006; 21 [suppl 4]: iv 405
8. Mazzaferro S, Coen G, Bandini S et al. Role of ageing, chronic renal failure and dialysis in the calcification of mitral annulus. *Nephrol Dial Transplant* 1993; 8(4): 335-340
9. Ribeiro S, Ramos A, Brandao A et al. Cardiac valve calcification in haemodialysis patients: role of calcium-phosphate metabolism. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13(8): 2037-2040
10. Jeren-Strujic B, Raos V, Jeren T, Horvatin-Godler S. Comparative study of mitral annular calcification (MAC) with cardiac arrhythmias in dialysis patients. *Coll Antropol* 1997; 21(1):167-174
11. Umana E, Ahmed W, Alpert MA. Valvular and perivalvular abnormalities in end-stage renal disease. *Am J Med Sci* 2003; 325(4): 237-242
12. Baglin A, Hanslik T, Vaillant J et al. Severe valvular heart

disease in patients on chronic dialysis. A five-year multicenter French survey. *Ann Med Interne Paris* 1997; 148(8): 521-526

13. Wang AY, Wang M, Woo J et al. Cardiac valve calcification as an important predictor for all-cause mortality and cardiovascular mortality in long-term peritoneal dialysis patients: a prospective study. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(1):159-168

14. Rufino M, Garcia S, Jimenez A et al. Heart valve calcification and calcium x phosphorus product in hemodialysis patients: analysis of optimum values for its prevention. *Kidney Int* 2003; 85 [Suppl]:S115-118

15. Wang AY, Woo J, Wang M et al. Association of inflammation and malnutrition with cardiac valve calcification in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2001;12(9):1927-1936

16. Raos V, Jeren-Strujic B, Antos M, Horvatin-Godler S. Frequency of mitral annular calcification in patients on hemodialysis estimated by 2-dimensional echocardiography. *Acta Med Croatica* 1996; 50(4-5):179-183

17. Lang RM, Bierig M, Devereux RB et al. Recommendations for Chamber Quantification: A Report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, Developed in Conjunction with the European Association of Echocardiography, a Branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005;18:1440-1463

18. Garcia MJ, Thomas JD, Klein AL. New Doppler echocardiographic applications for the study of diastolic function. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32(4):865-875

19. Raj Dominic SC, Somiah S, Mani K et al. Valvular dysfunction in uraemia. *Indian J Med Res* 1996;103:98-102

20. Bijak K, Matuszkiewicz-Rowinska J, Niemczyk S et al. Valvular and vascular calcifications in patients with chronic kidney disease: the role of dyslipidemia. *Nephrol Dial Transpl* 2006; 21 [suppl 4]: iv 404

21. Raggi P, Bommer J, Chertow GM. Valvular calcification in hemodialysis patients randomized to calcium-based phosphorus binders or sevelamer. *J Heart Valve Dis* 2004; 13(1): 134-141

22. Malergue MC, Urena P, Prieur P et al. Incidence and development of aortic stenosis in chronic hemodialysis. An ultrasonographic and biological study of 112 patients. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1997;90(12):1595-1601

23. Moe SM, Chen NX. Pathophysiology of vascular calcification in chronic kidney dis. *Circul Res* 2004;95:560

24. Moe SM. Vascular calcification: Hardening of the evidence. *Kidney Int* 2006;70(9):1535-1537

25. Ferramosca E, Bellas A, Muntner P et al. Aortic valve calcification as a marker of coronary artery disease in prevalent hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transpl* 2006; 21 (suppl 4): iv 438

26. Joki N, Hase H, Kishi N et al. Calcaneal osteopenia is a strong predictor for cardiovascular events independent of malnutrition inflammation status in chronic hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transpl* 2005;20 [suppl 5]: 102

Поступила в редакцию 24.05.2007 г.

Принята в печать 22.06.2007 г.

© Г.А.Игнатенко, И.В.Мухин, С.В.Туманова, 2007
УДК 616.611-002-036.12+616.12-009.72]-08.835.3

Г.А. Игнатенко, И.В. Мухин, С.В. Туманова

АНТИГИПЕРТЕНЗИВНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНТЕРВАЛЬНОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ И СТЕНОКАРДИЕЙ

G.A. Ignatenko, I.V. Mukhin, S.V. Tumanova

ANTIHYPERTENSIVE EFFECTIVENESS OF INTERVAL NORMOBARIC HYPOXYTHERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS AND ANGINA PECTORIS

Кафедра пропедевтической терапии и клинической кардиологии Донецкого государственного медицинского университета, Украина

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ – оценить антигипертензивную эффективность ИНБГТ у больных с сочетанной патологией – хроническим гломерулонефритом (ХГН) и стенокардией. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** В исследование включено 77 больных с сочетанной патологией – стенокардией напряжения и ХГН. Первую группу составили 47 пациентов, которым согласно рекомендациям Европейского кардиологического общества (2006) назначали нитраты, блокаторы кальциевых каналов (БМК), антиагреганты, бета-адреноблокаторы (БАБ), статины, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ) (по показаниям), диуретики (по показаниям) в сочетании с интервальной нормобарической гипокситерапией (ИНБГТ). Во 2-ю группу включены 30 пациентов, которые получали только медикаментозную терапию без ИНБГТ. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Сопоставление влияния двух терапевтических режимов на величину артериального давления показало более выраженный антигипертензивный эффект у комбинации лекарственной терапии с ИНБГТ. У пациентов 1-й группы наблюдалось менее интенсивное снижение частоты сердечных сокращений, чем при использовании только лекарственного лечения. Частота достижения целевого уровня давления при сочетании лекарственного лечения с ИНБГТ составила 100%, а при применении только медикаментозной терапии – 77,7%. Темпы снижения систолического давления при сочетании лекарственной терапии с ИНБГТ оказались выше, чем при медикаментозной терапии. Статистически значимые различия величины систолического давления определялись уже через 3 часа от начала суточного мониторинга давления. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Сочетанная терапия с применением ИНБГТ позволила более эффективно контролировать артериальную гипертензию по сравнению с традиционным медикаментозным лечением гипертензивного синдрома.

Ключевые слова: антигипертензивная эффективность, прерывистая нормобарическая гипокситерапия, стенокардия, хронический гломерулонефрит.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to assess the antihypertensive effectiveness of interval normobaric hypoxotherapy (INBHT) in patients with combined pathology – chronic glomerulonephritis (CGN) and angina pectoris. **PATIENTS AND METHODS.** The investigation included 77 patients with combined pathology – angina on exertion and CGN. The first group consisted of 47 patients, who, according to recommendations of the European cardiological society (2006), were treated with nitrates, calcium channel blockers (CCB), antiaggregants, beta-adrenoblockers (BAB), statins, inhibitors of the angiotensin converting enzyme (by indications), diuretics (by indications) in combination with INBHT. The second group included 30 patients who were given only medicamentous therapy without INBHT. **RESULTS.** A comparison of the effects of the two therapeutic regimens on the values of arterial pressure has revealed more pronounced antihypertensive effects of the combination of medicamentous therapy with INBHT. The first group patients demonstrated less intensive decrease of heart rate than those treated without INBHT. The frequency of achieving the desired pressure level was 100% when medicamentous therapy was combined with INBHT, medicamentous therapy only – 77.7%. The rate of decreasing the systolic pressure proved to be higher when the medicamentous therapy was combined with INBHT, than without INBHT. Statistically reliable differences of systolic pressure were seen as early as in 3 hours after the beginning of the 24 hours monitoring of pressure. **CONCLUSION.** Combined therapy with INBHT allowed more effective control of arterial hypertension as compared with traditional medicamentous treatment of hypertensive syndrome.

Key words: antihypertensive effectiveness, intermittent normobaric hypoxotherapy, angina pectoris, chronic glomerulonephritis.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность изучения кардио-ренального синдрома обусловлена не только частым сочетанием патологии почек и сердечно-сосудистой системы, но и единством патогенетических механизмов [1].

В структуре причин хронической почечной недостаточности (ХПН) на долю хронических форм гломерулонефрита (ХГН) приходится 47–68% [2, 3], а кардиоваскулярная смертность больных с хроническими заболеваниями почек, в особеннос-

ти при развитии ХПН в 10–20 раз превышает аналогичные показатели в общей популяции [4, 5].

Частыми заболеваниями сердечно-сосудистой системы у почечного контингента больных являются: острые и хронические формы ишемической болезни сердца (ИБС) (хронические формы ИБС при ХПН диагностируются у 33–55% пациентов), артериальная гипертензия (АГ), гиперлипидемии, гипертрофия левого желудочка, систолическая и/или диастолическая дисфункция левого желудочка [4, 5, 6, 7].

При мезангиокапиллярном ХГН частота АГ достигает 85%, при фокально-сегментарном – 65%, при мембранозном – 51%, при мезангиальном пролиферативном – 49%, при IgA нефропатии – 43%, при гломерулонефрите с минимальными изменениями до 30% [8].

Продолжаются поиски новых подходов к лечению синдрома АГ.

Интервальная нормобарическая гипокситерапия (ИНБГТ) является немедикаментозным методом лечения состояний, ассоциированных с синдромом АГ и тканевой (миокардиальной, почечной) ишемией.

Цель работы: оценить антигипертензивную эффективность ИНБГТ у больных с сочетанной патологией – ХГН и стенокардией.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 77 больных с сочетанной патологией – стенокардией напряжения и ХГН. Критериями включения в исследование служили: наличие верифицированной стенокардии 1–3 функциональных классов, синусовый ритм, безболевая ишемия миокарда, ХГН с не нефротическим уровнем протеинурии, ренопаренхимная АГ 1–2 стадии, сохранная функция почек. Критерии исключения: острый коронарный синдром, прогрессирующая стенокардия, стабильная стенокардия 4 функционального класса, инфаркт миокарда давностью до 6 месяцев, хроническая постинфарктная аневризма левого желудочка, тромбы в полостях сердца, диссекция аневризмы аорты, хроническая сердечная недостаточность 3, АГ 3 стадии, ХПН, нефротический синдром, сахарный диабет, заболевания и состояния, препятствующие проведению нагрузочных тестов, пациенты после реваскуляризирующих операций на коронарных артериях и с имплантированным водителем ритма или кардиовертером-дефибрилятором.

В 1-ю группу включены 47 (61,0%) пациентов, которым согласно рекомендациям Европейского кардиологического общества (2006) назначали нитраты, блокаторы кальциевых каналов (БКК), ан-

тиагреганты, бета-адреноблокаторы (БАБ), статины, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ) (по показаниям), диуретики (по показаниям) в сочетании с ИНБГТ. Во 2-ю группу включены 30 (39%) пациентов, которые получали только медикаментозную терапию без ИНБГТ. Лечение стенокардии начинали с нитратов или БАБ, при недостаточной эффективности добавляли БКК. ИАПФ назначали при АГ, постинфарктным пациентам, при ремоделировании камер сердца и хронической систолической или диастолической сердечной недостаточности. Группы больных подбирались с учетом их максимальной однотипности. Целевыми уровнями артериального давления (АД) считали < 130/85 мм рт.ст.

Дизайн исследования представлен на рис. 1.

Методы обследования: лабораторные (анализ крови, мочи, суточная протеинурия, скорость клубочковой фильтрации), морфологический (нефробиопсия). Биоптаты почечной ткани изучали посредством светооптической и иммунофлюоресцентной микроскопии.

До и после лечения выполняли: ЭКГ покоя (8/12-канальный электрокардиограф «Bioset» 8000, Германия), холтеровское мониторирование ЭКГ и АД (монитор «Cardiotens», Meditech, Венгрия), эхокардиографию (эхокардиограф «Vivid-3 Pro», General Electrics, США), велоэргометрию (велоэргометр «Ergometrics 900», Jaeger, Германия), неинвазивное электрофизиологическое исследование сердца для верификации стенокардии и уточнения ее функционального класса (ФК) (по показаниям), пробу с нитроглицерином. Иммуноферментным методом для исключения повреждения миокарда исследовали содержание в крови тропонина I (наборы фирмы DRG, США; анализатор «Rider, Washer, Shaker», Sanofi, Франция).

Перед началом ИНБГТ выполняли гипоксическую пробу (стационарный комплекс для интервальной гипоксической терапии «ГИП 10-1000-0», Трейд Медикал, Россия) в течение 10 минут при 11% концентрации кислорода во вдыхаемой смеси. О непереносимости гипоксии судили по появлению бледности кожных покровов, одышки, гипергидроза, тахикардии или брадикардии, прироста или снижения АД более чем на 30 мм рт.ст.

При гиперчувствительности к гипоксии у некоторых пациентов наблюдалось непродолжительное головокружение или транзиторная эмоциональная лабильность, исчезающие после увеличения концентрации кислорода в дыхательной смеси до 13–18%.

Для лечения использовали индивидуально подобранные «гипоксические» циклы – (4х4)х7,

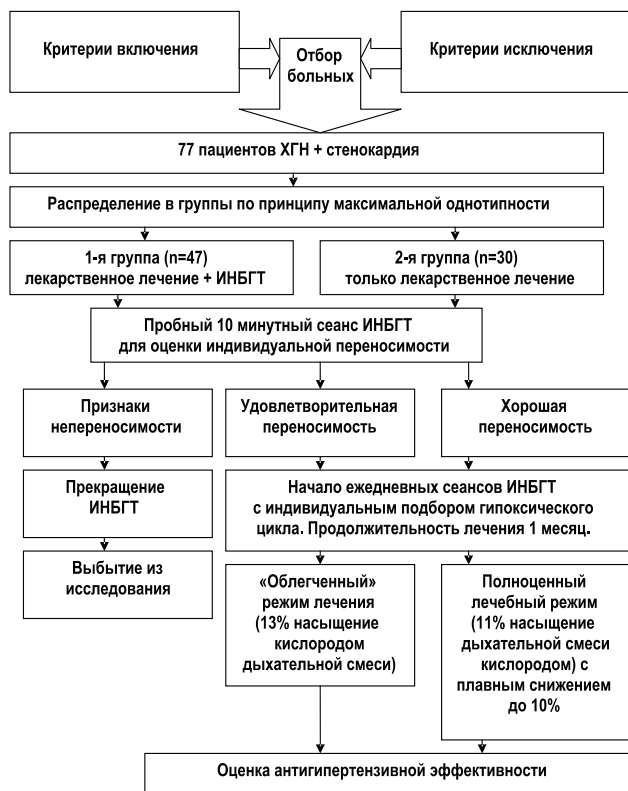


Рис. 1. Дизайн исследования.

(3x3)x5, (2x2)x5 и другие. «Гипоксический» цикл включал гипоксическое время (время дыхания гипоксической смесью), интервальное время (время дыхания атмосферным воздухом) и количество таких циклов. При возникновении гипотензии, тахикардии или снижении сатурации кислорода на пульсоксиметре менее 85%, количество и продолжительность компонентов цикла корректировали. В течение 30 дней пациенты получали ежедневные сеансы ИНБГТ продолжительностью 30–40 минут каждый.

Статистическую обработку выполняли при помощи программ «Statistica 5.1» и «Biostatistica 4.03» с подсчетом критерия Стьюдента и Хи-квадрат (χ^2). Статистически значимые различия определяли при уровне значимости (p) < 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Группы больных не различались по возрасту, полу, длительности ИБС и ХГН, ФК стенокардии, частоте и варианту инфаркта миокарда в анамнезе, стадии хронической сердечной недостаточности, морфологическому варианту гломерулонефрита, стадии АГ (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика больных и особенности течения у них стенокардии и ХГН

Характеристика	Группы больных	
	1-я (n=47)	2-я (n=30)
Средний возраст больных, ($\bar{X} \pm m$, лет)	45,3 \pm 2,1	43,1 \pm 3,4
Пол больных (м / ж), абс.	31/16	21/9
Критерий достоверности различия больных по полу (χ^2) и доверительный уровень (p)	$\chi^2=0,1, p=0,9$	
Средняя продолжительность ИБС, ($M \pm m$, годы)	3,2 \pm 0,3	3,8 \pm 0,2
ФК стенокардии, абс (%):		
- I	31(65,9%)	18(60,0%)
- II	12(25,5%)	6(20,0%)
- III	4(8,5%)	6(20,0%)
Критерий достоверности различия частоты ФК стенокардии (χ^2) и доверительный уровень (p)	$\chi^2=2,2, p=0,3$	
Инфаркт миокарда в анамнезе, абс (%):		
- Q инфаркт	4(8,5%)	1(3,3%)
- не Q инфаркт	7(14,9%)	4(13,3%)
Критерий достоверности различия частоты инфаркта миокарда (χ^2) и доверительный уровень (p)	$\chi^2=0,1, p=0,9$	
Стадия сердечной недостаточности, абс (%):		
- I	21(44,7%)	15(50,0%)
- IIA	18(38,3%)	13(43,3%)
- IIB	8(17,1%)	2(6,7%)
Критерий достоверности различия частоты стадии сердечной недостаточности (χ^2) и доверительный уровень (p)	$\chi^2=1,7, p=0,4$	
Средняя продолжительность ХГН, ($\bar{X} \pm m$, годы)	4,1 \pm 0,7	3,9 \pm 0,3
Морфологические варианты ХГН, абс (%):		
- мезангиопролиферативный	16(34,0%)	12(40,0%)
- мезангиокапиллярный	9(19,1%)	8(26,7%)
- фокальносегментарный гломерулосклероз-гиалиноз	2(4,3%)	1(3,3%)
Критерий достоверности различия частоты морфологических вариантов ХГН (χ^2) и доверительный уровень (p)	$\chi^2=0,2, p=0,8$	
АГ, абс (%):		
- латентная	10(21,3%)	7(23,3%)
- стойкая	3(6,4%)	2(6,7%)
Критерий достоверности различия частоты АГ (χ^2) и доверительный уровень (p)	$\chi^2=0,2, p=0,6$	

Динамика средних показателей САД, ДАД, ЧСС до и после лечения

Показатели	Этапы обследования	Группы больных	
		1-я (n=47)	2-я (n=30)
САД, $\bar{X} \pm m$, мм рт.ст.	до лечения	149,2 \pm 3,4	151,0 \pm 4,8
	после лечения	120,7 \pm 3,9**	134,7 \pm 5,2* **
ДАД, $\bar{X} \pm m$, мм рт.ст.	до лечения	98,6 \pm 4,1	109,1 \pm 4,7
	после лечения	75,2 \pm 2,9**	95,2 \pm 3,2* **
ЧСС, $\bar{X} \pm m$, мм рт.ст.	до лечения	84,3 \pm 4,2	81,0 \pm 4,5
	после лечения	77,2 \pm 5,6	68,2 \pm 2,8**

Аббревиатуры: САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, ЧСС – частота сердечных сокращений.

Примечание. * различия между аналогичными показателями в 1-й и 2-й группе статистически достоверны (при $p < 0,05$); ** различия между аналогичными показателями до и после лечения статистически достоверны (при $p < 0,05$).

Следует отметить, что ХГН в обеих группах больных опережал развитие стенокардии. Среди морфологических вариантов ХГН в обеих группах преобладал мезангиальный пролиферативный (34% – в 1-й и 40% – во 2-й группе).

Частота АГ в группах больных составила 27,7% и 30% соответственно. Статистически значимых различий частоты АГ в группах больных не получено ($\chi^2=0,2$, $p=0,6$).

В табл. 2 представлена динамика средних показателей АД и частоты сердечных сокращений (ЧСС). Оказалось, что 1-я группа статистически превосходила 2-ю по интенсивности снижения АД, что указывает на взаимное потенцирование базисной антигипертензивной терапии и ИНБГТ. Такое лечение не оказывало статистически значимого влияния на ЧСС. Напротив, во 2-й группе после лечения снижение ЧСС было более выраженным.

Частота достижения целевого уровня давления (ЦУД) составила в 1-й группе 100%, а во 2-й – только 77,7% (рис. 2).

В табл. 3 приведены двойные и тройные комбинации антигипертензивных классов препаратов,

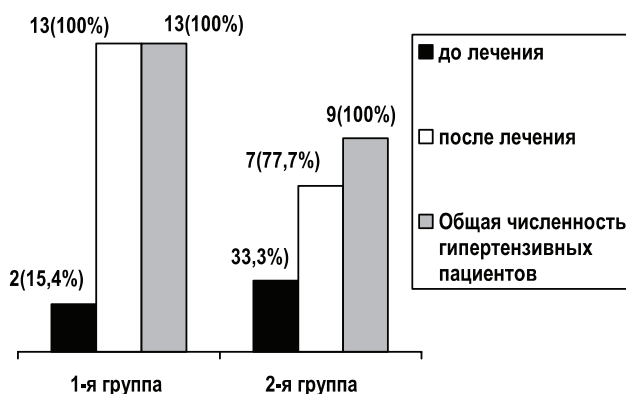


Рис. 2. Частота достижения целевого уровня артериального давления (представлена в % от численности гипертензивных пациентов в каждой из групп).

Таблица 2

назначаемые в обозначенных клинических ситуациях [11]. Сравнение частоты применения разных комбинаций антигипертензивных препаратов между группами больных показало отсутствие статистически значимых различий ($\chi^2=3,2$, $p=0,4$). Таким образом, при статистически равноценной частоте применения гипотензивной терапии прирост ЦУД в 1-й группе был получен при помощи ИНБГТ.

Следует подчеркнуть, что под влиянием антигипертензивной терапии и ИНБГТ снижение АД наблюдалось более быстрыми темпами, начиная с 3-го часа мониторинга АД, когда были получены статистически достоверные

различия между средними величинами систолического АД. Так же достоверные различия получены через 12 часов и 18 часов с момента начала исследования суточной вариабельности АД.

ОБСУЖДЕНИЕ

Высокий уровень АД, в том числе диастолического, отсутствие его физиологического снижения ночью (non dipper), быстрый и стремительный утренний подъем, чрезмерные колебания в течение суток являются неблагоприятными прогностическими признаками с позиции прогрессирования почечного заболевания и возникновения сосудистых осложнений АГ [9, 10]. Стойкая диастолическая АГ способствует формированию гипертрофии левого желудочка и развитию его диастолической, а в последующем и систолической дисфункции [11]. Сердечная недостаточность является второй причиной смерти больных ХГН после ХПН и особенно часто развивается при ренопаренхимной АГ [12].

При естественном течении ренопаренхимной АГ (без лечения) скорость ежегодного снижения скорости клубочковой фильтрации нередко превышает 10-12 мл/мин/год [13]. Напротив, назначение адекватных доз гипотензивных средств с ренопротекторными свойствами (ИАПФ, блокаторы рецепторов ангиотензина-2, БКК) позволяет замедлить темпы прогрессии в 2–4 раза [11]. Максимальная ренопротекция достигается при уровне АД < 130/85 мм рт.ст. [7, 13, 14].

ИНБГТ в последние 10 лет нашла свое применение в кардиологии при лечении таких состояний, как «гибернация» миокарда, безболевого ишемия миокарда, стабильная стенокардия и синдром Х – состояний, при которых ведущим механизмом является спазм мелких ветвей коронарных артерий, по-видимому, обусловленный эндотелиальной дисфункцией и нарушением метаболизма оксида азо-

Таблица 3

Комбинации и клинические ситуации назначения антигипертензивных препаратов

Комбинации	Клиническая ситуация	Группы больных	
		1-я (n=47)	2-я (n=30)
	Двойная комбинация		
Д+ИАПФ	Стойкая АГ, ХСН, ремоделирование полостей сердца, ренопротекция Латентная АГ, ХСН с сохранной систолической функцией ЛЖ	6(12,8%)	2(6,7%)
БАБ+Д		9(19,1%)	4(13,3%)
БАБ+ИАПФ	Стойкая АГ, постинфарктные пациенты, ХСН, ИБС, ремоделирование полостей сердца	3(6,4%)	3(10,0%)
БКК+БАБ		9(19,1%)	7(23,3%)
БКК+ИАПФ	Стойкая АГ, гиперлипидемии, ренопротекция	4(8,5%)	5(16,7%)
	Тройная комбинация		
Д+БАБ+БКК	Стойкая АГ, ИБС Стойкая АГ, гиперлипидемии, ремоделирование полостей сердца Стойкая АГ, ИБС, постинфарктные пациенты, ремоделирование полостей сердца	2(4,3%)	2(6,7%)
Д+БКК+ИАПФ		6(12,8%)	4(13,3%)
ИАПФ+БКК+БАБ		8(17,0%)	3(10,0%)
Критерий достоверности различий (χ^2) частоты назначений антигипертензивных препаратов между группами и доверительный уровень (p)	$\chi^2=3,2, p=0,4$		

Примечание. Представлен % больных от численности пациентов в каждой из групп.

Аббревиатуры: Д – диуретик, ИАПФ – ингибитор ангиотензинпревращающего фермента, БКК – блокатор кальциевых каналов, БАБ – бета-адреноблокатор, АГ – артериальная гипертензия, ХСН – хроническая сердечная недостаточность, ЛЖ – левый желудочек.

та [15, 16]. Сходный с этим процесс развивается в афферентных и эфферентных артериолах клубочка. Спазм выносящей артериолы приводит к повышению интрагломерулярного давления, появлению/увеличению протеинурии и рассматривается в настоящее время с позиции одного из важных гемодинамических механизмов прогрессии хронической болезни почек [17].

При адаптации к гипоксии происходит увеличение активности антиоксидантных ферментов в мозге, сердце, стенке сосудов, почках и печени, возрастает цитохромная устойчивость к ишемии за счет активации системы Р-450, стимулируемой 7-альфа-холестерол-гидрогеназой, ответственной за окисление холестерина в желчные кислоты [18]. Полагают, что данный механизм может лежать в основе снижения концентрации атерогенных фракций липопротеидов, что является весьма важным с позиции гиперлипидемии как ведущего фактора прогрессирования как ИБС, так и ХГН [19].

Периодическая «гипоксическая тренировка» способствует развитию целого комплекса благоприятных факторов. Так, торможение супраоптического ядра под влиянием чередования состояний гипоксии/нормоксии, с одной стороны, потенцирует экскрецию соли и воды, а с другой способствует снижению секреции вазопрессина и альдостерона, что оказывает долгосрочный мягкий антигипертензивный эффект [20]. В настоящее время обсуждается гипотеза стимуляции синтеза и высвобождения естественного сосудистого ре-

лаксирующего фактора NO в условиях гипоксической тренировки и реализация этого механизма в эндотелийзависимое расслабление. Возможно в связи с однотипным механизмом вазодилатации под влиянием гипоксии у больных, которые получали нитропрепараты и ИНБГТ, отмечалось более интенсивное и более продолжительное снижение АД. Увеличение мощности системы захвата и транспорта кислорода способствует увеличению цитохромной толерантности к гипоксии и тканевой ишемии, что ведет к снижению частоты приступов стенокардии [21]. Отдаленные результаты исследования влияния периодической гипоксии при гипертонической болезни показали, что микроциркуляторные изменения после наступления адаптации к гипоксии оказались самыми стойкими. Повышение активности энзимной системы Р-450 – повышает устойчивость к атерогенным факторам [22]. Гипотетически основной точкой приложения у больных с сочетанной патологией является именно «тренирующее» влияние гипоксии на тонус артерий и артериол почек и сердца.

Показано, что зона некроза миокарда после двухдневной окклюзии коронарной артерии у животных при использовании ИНБГТ оказывалась в два раза меньшей, чем у крыс без гипокситерапии [22]. Зона постинфарктного рубца в эксперименте была на 1/3 меньше при использовании предварительной ИНБГТ. При этом увеличилось количество капилляров (неоангиогенез) в околорубцовой зоне. Регулируемая гипоксия и долгосрочная адаптация

к ней может в значительной степени предупреждать ишемические и адренергические повреждения сердца.

Важным обстоятельством с учетом аутоиммунного механизма прогрессирования ХГН имеет снижение титра циркулирующих иммунных комплексов и аутоиммунной активности под влиянием ИНБГТ, а также некоторая депрессия Т-лимфоцитарного звена иммунитета и киллерной активности [23].

При использовании ИНБГТ у больных со стабильной стенокардией достигнуто увеличение пороговой мощности нагрузки на $25,1 \pm 3,5\%$ [24]. У этих же пациентов в течение 4–10 сеансов ИНБГТ в покое снижалась частота сердечных сокращений, минутный объем дыхания и увеличилась его эффективность.

А.А. Соколов и соавт. [24] показали, что применение ИНБГТ при ИБС способствует включению инотропных и сосудистых механизмов с перераспределением кровотока и оптимизацией тонуса коронарных артерий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Сопоставление влияния двух терапевтических режимов на величину артериального давления показало более выраженный антигипертензивный эффект у комбинации лекарственной терапии с ИНБГТ.

2. У пациентов 1-й группы наблюдалось менее интенсивное снижение частоты сердечных сокращений, чем при использовании только лекарственного лечения.

3. Частота достижения целевого уровня давления при сочетании лекарственного лечения с ИНБГТ составила 100%, а при применении только медикаментозной терапии – 77,7%.

4. Темпы снижения систолического давления при сочетании лекарственной терапии с ИНБГТ оказались выше, чем при медикаментозной терапии. Статистически значимые различия величины систолического давления определялись уже через 3 часа от начала суточного мониторирования давления.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Каюков ПГ. Кардиоренальный континуум: патогенетические основы превентивной нефрологии. *Нефрология* 2005; (3): 7-14
2. Колесник МО, Сайдакова НО. Медико-профілактична

допомога хворим нефрологічного профілю у 2005 році в Україні. *Укр Журнал Нефрології та Діалізу* 2006; 4: 21-40

3. Сторожаков ГИ, Гендлин ГЕ, Томила НА и др. Поражение сердечно-сосудистой системы при хронической почечной недостаточности. *Рос Мед Журнал* 2005; 2: 4-8

4. Багрий АЭ. Сердечно-сосудистые нарушения при хронической почечной недостаточности. *Тер арх* 1998; (11): 80-83

5. Кутырина ИМ, Руденко ТЕ, Швецов МЮ, Кушнир ВВ. Факторы риска сердечно-сосудистых осложнений у больных на додиализной стадии хронической почечной недостаточности. *Тер арх* 2006; 5: 45-50

6. Дядык АИ. Почка и сердце. Сердце и почки. *Мистецтво лікування* 2004; 2: 36-40

7. Сиренко Ю. Особенности лечения артериальной гипертонии при поражении почек. *Ліки України* 2004; 11: 16-22

8. Пирог ЛА., ред. *Клінічна нефрологія*. Здоров'я, Київ, 2004: 319-326

9. Johnson CA. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease in adults: Part II. *Am Pham Physician* 2004; 70(6): 1091-1097

10. Ruilope LM, Rodisio J. The kidney in arterial hypertension. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16 [Suppl. 1]: 50-52

11. Ruilope LM. New European guidelines for management of hypertension: what is relevant for the nephrologists. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 524-528

12. Martinez-Maldonado M. Role of hypertension in the progression of chronic renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16 [Suppl. 1]: 63-66

13. Дядык АИ, Багрий АЭ. Артериальные гипертонии в современной клинической практике. НОРД-ПРЕСС, Донецк, 2006: 322

14. Epstein M, Tobe S. What is the optimal strategy to intensify blood pressure control and prevent progression of renal disease? *Current Hypertension Reports* 2001; (3): 422-428

15. Горанчук ВВ, Сапова НИ, Иванов АО. Гипокситерапия. ЭЛБИ-СПб, СПб, 2003: 536

16. Колчинская АЗ, Цыганова ТН, Остапенко ЛА. *Нормобарическая интервальная гипоксическая тренировка в медицине и спорте*. Медицина, М., 2003; 408

17. Кузьмин ОБ, Пугаева МО, Чуб СВ, Ландарь ЛН. Почечные механизмы эссенциальной гипертонии. *Нефрология* 2005; 2: 23-29

18. Сазонтова ТГ. Закономерности модуляции антиоксидантного статуса клетки в ответ на активацию свободно-радикального окисления. *Нур Medical J* 2002; 1-2: 2-10

19. Сазонтова ТГ, Жукова АГ, Зенина ТА и др. Адаптация к периодическому действию гипоксии и гипероксии. *Нур Medical J* 2003; 1-2: 2-9

20. Алешин ИА, Галяутдинов ГС, Вдовенко ЛГ. и др. Отдаленные результаты лечения больных гипертонической болезнью методами адаптации к периодической гипоксии в условиях барокамеры. *Нур Medical J* 1995; 2: 20-22

21. Соколов АА, Дудкина ЮВ, Дудко ВА и др. Влияние однократной дозированной гиперкапнической гипоксии на показатели кардиореспираторной системы у больных ишемической болезнью сердца. *Нур Medical J* 1994; 3: 23-25

22. Стрелков РБ. *Нормобарическая гипокситерапия*. Изд Минздрава РФ, М., 1993; 18

23. Сухоруков ВС. О роли наследственной предрасположенности в формировании тканевой гипоксии. *Нур Medical J* 2003; 1-2: 22-29

Поступила в редакцию 30.03.2007 г.

Принята в печать 22.06.2007 г.

© О.Н.Береснева, М.М.Парастаева, Г.Т.Иванова, И.М.Зубина, А.Г.Кучер, И.Г.Каюков, 2007
УДК 616.61-089.87-08.874.2:635.655-092.4

О.Н. Береснева, М.М. Парастаева, Г.Т. Иванова, И.М. Зубина, А.Г. Кучер, И.Г. Каюков

ОЦЕНКА КАРДИОПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ МАЛОБЕЛКОВОЙ СОЕВОЙ ДИЕТЫ И УРОВЕНЬ НЕОРГАНИЧЕСКИХ АНИОНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У СПОНТАННО-ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС С НЕФРЭКТОМИЕЙ

O.N. Beresneva, M.M. Parastaeva, G.T. Ivanova, I.M. Zubina, A.G. Kucher, I.G. Kayukov

ASSESSMENT OF CARDIOPROTECTIVE EFFECTS OF LOW-PROTEIN SOY DIET AND LEVEL OF NONORGANIC ANIONS OF BLOOD SERUM IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS

Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного университета им.акад. И.П.Павлова, Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ – оценка уровня АД и индекса гипертрофии миокарда левого желудочка (ИГЛЖ), концентрации нитратов и сульфатов в сыворотке крови у спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR, подвергнутых нефрэктомии (НЭ), на фоне стандартной диеты и при потреблении малобелковой соевой диеты. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Эксперименты выполнены на самцах спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR с интактными почками или подвергнутых 5/6 нефрэктомии (НЭ). Исследованы: 1. Контрольная группа (n=15) – ложноперированные (ЛО) крысы, получавшие стандартную диету (20, 16% белка животного происхождения); 2. Животные, (n=11) получавшие после НЭ стандартную диету (n=11); 3. ЛО крысы (n=10), получавшие малобелковую соевую диету (МБД), содержащую 10% соевого изолята SUPRO 760; 4. Крысы (n=11), получавшие после НЭ МБД. Через 2 месяца после НЭ или ЛО у животных измеряли артериальное давление, подсчитывали частоту сердечных сокращений, в сыворотке крови определяли содержание нитратов (NO_3^- , мг/л) и сульфатов (SO_4^{2-} , мг/л), оценивали степень гипертрофии сердца, миокарда левого желудочка, печени, селезенки. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** У крыс SHR, получавших стандартную диету, НЭ приводила к росту АД и ИГЛЖ по сравнению с контролем. Малобелковая соевая диета предотвращала рост среднего АД и ИГЛЖ у крыс с НЭ. Соевая диета снижала ИГ печени у ОЛ животных и крыс с НЭ по сравнению с контрольной группой, получавшей стандартную диету. Существенных различий по уровню NO_3^- между анализируемыми группами не выявлено. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** МБД, включающая соевый белковый изолят SUPRO 760, обладает кардиопротективным действием у спонтанно-гипертензивных крыс с экспериментальной почечной недостаточностью, уменьшая выраженность гипертрофии миокарда и предотвращая рост среднего АД.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, экспериментальная почечная недостаточность, малобелковая соевая диета, миокард, нитраты.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to assess the level of AP and the left ventricle hypertrophy index (LVHI), concentration of nitrates and sulfates in blood serum of spontaneously hypertensive SHR rats subjected to nephrectomy (NE) against the background of standard diet and low-protein soy diet (LPSD). **MATERIAL AND METHODS.** Experiments were fulfilled in male spontaneously hypertensive SHR rats with intact kidneys or subjected to 5/6 NE. The following investigations were carried out: 1. A control group (n=15) – sham-operated (ShO) rats receiving a standard diet (20.16% of the animal origin protein); 2. Animals (n=11) receiving the standard diet after NE; 3. ShO rats (n=10) receiving LPSD containing 10% soy isolate SUPRO 760; 4. Rats (n=11) receiving LPSD after NE. In two months after NE and sham operation the following investigations were made in the animals: measurement of arterial pressure, heart rate, content of nitrates (NO_3^- , mg/l) and sulfates (SO_4^{2-} , mg/l) in blood serum, the degree of hypertrophy of the heart, left ventricle myocardium, liver, spleen. **RESULTS.** In SHR rats, receiving the standard diet, NE resulted in growing AP and LVHI as compared with controls. LPSD prevented the growth of mean AP and LVHI3 in the rats with NE. Soy diet decreased the hypertrophy index of the liver in ShO animals and NE rats as compared with the controls given the standard diet. No substantial differences in the level of NO_3^- were found between the analyzed groups. **CONCLUSION.** LPSD including the soy isolate SUPRO 760 has a cardioprotecting effect in spontaneously hypertensive rats with experimental renal failure due to decreased myocardium hypertrophy and prevention of mean AP growth.

Key words: arterial hypertension, experimental renal failure, low-protein soy diet, myocardium, nitrates.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема кардиоренальных взаимоотношений при нарушениях функции почек у лиц с первичной артериальной гипертензией (АГ) остается недостаточно изученной [1]. Ранее считали, что только тяжелая гипертензия может приводить к развитию гломерулосклероза и азотемии [2]. В настоящее время полагают, что АГ любой степени является одним из ведущих факторов риска развития и прогрессирования почечной недостаточности [3]. Более того, большинство известных сердечно-сосудистых факторов риска одновременно являются и факторами риска возникновения хронической болезни почек (ХБП). Научные исследования последних лет также выявили и влияние почечной патологии на частоту сердечно-сосудистых заболеваний, особенно у лиц с исходной сердечно-сосудистой патологией и дисфункцией левого желудочка [4–6]. В этой связи остается актуальным вопрос о поиске методов коррекции метаболических и функциональных нарушений при первичной АГ, осложненной ХБП. Показано, что у больных АГ существенно снижена продукция оксида азота (NO), который служит не только мощным вазодилататором, но и защищает сосудистую стенку от патологической перестройки. Для оценки эндотелиальной регуляции сосудистого тонуса используют измерение уровня стабильных метаболитов NO (нитратов и нитритов) в сыворотке крови или моче. В условиях организма в качестве метаболитов NO преобладают нитраты [7], которые в отличие от других метаболитов не подвергаются быстрым изменениям во время забора и хранения крови. Следует отметить, что основной задачей терапии при АГ является не только нормализация артериального давления (АД), но и активизация функции эндотелия, увеличение синтеза NO, что позволит снизить риск развития осложнений АГ.

В последнее время особое внимание уделяют лечебному питанию пациентов с ХБП и сердечно-сосудистыми изменениями. Существенное значение придают диетам с ограниченным содержанием животного белка. Наряду с классической малобелковой диетой (МБД) используют также диеты, включающие преимущественно белки растительного происхождения, которые лишены некоторых отрицательных свойств животных протеинов. Однако растительные протеины по своей биологической ценности обычно уступают белкам животного происхождения, и при их длительном потреблении у людей может развиваться дефицит незаменимых аминокислот (АК) и белково-энергетическая недостаточность [8, 9]. Исключением из этого правила являются соевые протеины, которые

содержат все незаменимые АК [10]. Соевый белок по скорректированному аминокислотному коэффициенту усвояемости белка, основанному на потребностях человека в АК, соответствует казеину [11] и является полноценным даже в качестве единственного источника пищевого белка [12]. Одной из отличительных особенностей соевого белка является довольно низкое содержание метионина, что может оказывать положительное действие, так как уменьшается вероятность развития гипергомоцистеинемии – фактора риска сердечно-сосудистых осложнений [13]. Соевые белковые изоляты в последнее время используют для лечения и профилактики хронических заболеваний сердечно-сосудистой системы (ишемия миокарда, атеросклероз), почек, органов пищеварения [8, 14, 15]. При хронических нефропатиях у крыс соевая диета оказывает протективное действие, нормализуя образование нитротирозина в почках [16]. Существует предположение, что введение в рацион соевого белка способствует нормализации АД [17].

Первоначально полагали, что многие положительные эффекты сои обусловлены наличием фитострогенов, которые обладают антиатерогенным действием, снижают концентрацию холестерина. Однако немаловажное значение в протективных эффектах может иметь аминокислотный состав соевых протеинов, наличие полиненасыщенных жирных кислот [13, 18, 19]. Кроме того, в составе соевых белков обнаружены пептиды, обладающие свойствами ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента [17].

В то же время следует отметить, что, несмотря на интерес клиницистов к применению диет, включающих соевые протеины, наблюдения за состоянием сердечно-сосудистой системы у пациентов с ХБП, осложненной первичной АГ и получающих диеты с включением соевых белков, практически отсутствуют. В связи с этим существенный интерес могут представлять экспериментальные исследования.

Целью нашей работы являлась оценка уровня АД и индекса гипертрофии миокарда левого желудочка (ИГЛЖ), концентрации нитратов и сульфатов в сыворотке крови у спонтанно-гипертензивных крыс линии SHR, подвергнутых нефрэктомии (НЭ), на фоне стандартной диеты и при потреблении малобелковой соевой диеты.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на взрослых (масса тела 190–210 г) самцах спонтанно гипертензивных крыс линии SHR (питомник «Колтуши» РАН). С

целью создания модели хронической почечной недостаточности животных подвергали резекции 5/6 почечной ткани. Операцию проводили под эфирным наркозом в 2 этапа с интервалом в 1 неделю. На 1-м этапе осуществляли резекцию 2/3 массы левой почки. Это практически максимально возможное удаление почечной паренхимы без затрагивания почечных лоханок. На 2-м этапе операции удаляли всю правую почку. Перед резекцией почки декапсулировали с целью сохранения надпочечников. Контролем служили ложнооперированные крысы. При «ложной» операции почки извлекали из операционной раны и без повреждения помещали обратно.

Через 2 недели после 2-го этапа нефрэктомии (НЭ) или «ложной» операции экспериментальным животным назначали соответствующую диету. Контрольную (1-ю) группу (n=15) составляли ложнооперированные крысы, получавшие стандартный корм (производитель «Информ-корм», Россия). В его состав входит: 20,16% полноценного белка животного происхождения, 75,3% углеводов. Таким образом, крысы потребляли ежедневно 3 г белка/100 г массы. Животные второй группы (n=11) получали после НЭ стандартную диету. Ложнооперированные крысы третьей группы (n=10) потребляли МБД, содержащую 10% соевого изолята SUPRO 760 (1,5 г белка/100 г массы; Protein Techn. Int., USA) и 90% растительной пищи (перловая крупа). Соевый изолят выпускается в виде порошка кремового цвета с нейтральным вкусом, высокой растворимостью и хорошими эмульгирующими свойствами. SUPRO-760 разрешен к применению в Российской Федерации (гигиеническое заключение МЗ РФ N77.99.9.916. П.7583.12. 99. от 16.12.99 г). Химический состав соевого изолята SUPRO-760 включает: белок – мин. 90,0%, влага – макс. 5,5%, жиры – макс. 1,0%, углеводы – 0,3%. Животные четвертой группы (n=11) получали после НЭ малобелковую диету (МБД), содержащую 10% соевого изолята. Доступ к воде был неограниченным.

По окончании сроков эксперимента перед забоем у всех животных измеряли среднее системное артериальное давление (АД) манжеточным методом, подсчитывали частоту сердечных сокращений (ЧСС). Электрограмму и кривую давления в окклюзионной манжетке регистрировали на самописце Н-338-2П при скорости протяжки бумажной ленты 10 мм/с. Уровень АД соответствовал величине давления в манжетке в момент прекращения пульсовых колебаний. Для каждого животного выполняли 4–5 измерений. Забой осуществляли через 2 месяца после НЭ. Во время забоя у

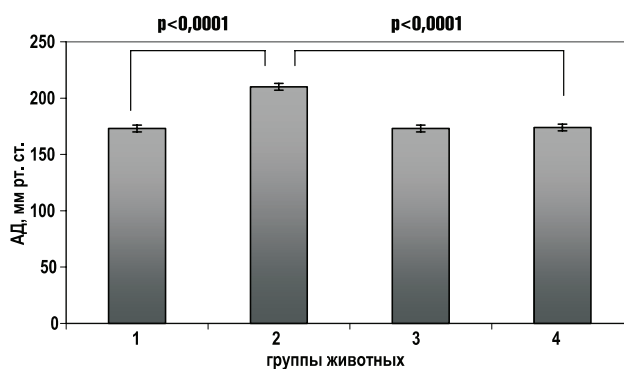
крыс собирали кровь для последующего анализа.

В сыворотке крови определяли содержание неорганических анионов: нитратов (NO_3^- , мг/л) и сульфатов (SO_4^{2-} , мг/л). Для определения анионов использовали капиллярный электрофорез, который является высокоэффективным методом разделения и анализа сложных смесей, основанным на различиях в электрофоретической подвижности заряженных частиц как в водных, так и в неводных буферных электролитах [20]. Работа выполнена на приборе «Капель-103Р», предоставленном НПФ АП «Люмэкс». Разделение проводили в кварцевом немодифицированном капилляре (Лэф. = 50 см, Лобщ. = 60 см) с внутренним диаметром 75 мкм. Использовалась сертифицированная методика определения анионов в сточных водах, разработанная НПФ АП «Люмэкс». Для адаптации ее к биологической жидкости, в нашем случае сыворотка крови, выполнялась пробоподготовка, заключавшаяся в осаждении белков 20%-м раствором трихлоруксусной кислоты и экспериментально подобранном разведении. В качестве ведущего электролита использовали буферный раствор следующего состава: 7 мМ оксид хрома (VI), 20 мМ диэтанолламин, 2 мМ ацетилтриметиламмония гидроксид, 0,25 мМ глюконат кальция. Для регистрации и обработки электрофореграмм использовали программу «Мультихром» («Амперсенд», Россия).

Степень гипертрофии сердца, миокарда левого желудочка (ЛЖ), печени, селезенки оценивали по индексу гипертрофии (ИГ), определяемому как соотношение массы органа к массе тела животного (мг/г) [21].

Статистический анализ полученных данных проводили общепринятыми методами с использованием t-критерия Стьюдента для непарных сравнений.

РЕЗУЛЬТАТЫ



Уровень среднего артериального давления крыс линии SHR, получавших диеты с различным содержанием белка. Группы крыс: 1 – контроль, стандартная диета; 2 – НЭ 2 мес., стандартная диета; 3 – ложнооперированные крысы, МБД; 4 – НЭ 2 мес., МБД.

Индексы гипертрофии органов крыс, получавших диеты с различным содержанием белка ($\bar{X} \pm m$)

Группы крыс	n	Индекс гипертрофии органов (мг/г)			
		сердце	левый желудочек	печень	селезенка
1 Ложноопер. (станд. диета)	15	3,74 ± 0,10	2,91 ± 0,09	39,58 ± 1,39	3,10 ± 0,18
2 НЭ 2 мес. (станд. диета)	10	4,98 ± 0,48	4,31 ± 0,25	40,36 ± 1,12	3,29 ± 0,10
3 Ложноопер. (МБД)	10	3,85 ± 0,04	3,08 ± 0,30	31,82 ± 0,82	2,77 ± 0,06
4 НЭ 2 мес. (МБД)	11	3,97 ± 0,06	3,12 ± 0,10	29,76 ± 1,04	3,06 ± 0,16
p ₁₋₂		0,007	0,00001	> 0,05	> 0,05
p ₃₋₄		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05
p ₂₋₄		0,05	0,0005	0,00001	> 0,05

Исследование показало, что у спонтанно-гипертензивных крыс, получавших стандартную диету, НЭ приводила к росту АД (в среднем на 17% через 2 месяца после операции) по сравнению с контрольной группой (рисунок). Малобелковая соевая диета предотвращала рост АД у крыс после НЭ. В то же время уровень АД ложнооперированных крыс не зависел от белкового состава предложенной диеты.

На данных сроках наблюдения не выявлены различия в ЧСС между всеми исследованными группами крыс линии SHR (ЧСС в среднем составляла: 402±9 в мин – в контрольной группе, 410±9 в мин – в группе крыс с НЭ на стандартной диете, 404±15 в мин – у ложнооперированных крыс на МБД, 416±11 в мин – у крыс с НЭ на МБД).

Интересные результаты были получены при оценке степени гипертрофии общей массы сердца, миокарда левого желудочка, печени и селезенки крыс (табл. 1). Экспериментальное уменьшение количества функционирующих нефронов приводило к существенному росту ИГ ЛЖ и ИГ сердца у спонтанно-гипертензивных крыс, получавших стандартный пищевой рацион по сравнению с контрольными ложнооперированными животными. В то же время у крыс, содержащихся после НЭ на малобелковой соевой диете, достоверного изменения ИГ сердца и ИГ ЛЖ относительно контроля не отмечалось. Таким образом, использование 10% соевой диеты предотвращало рост АД и увеличение массы миокарда у животных с НЭ. Кроме того,

у крыс линии SHR, как ложнооперированных, так и подвергнутых НЭ, малобелковая соевая диета снижала ИГ печени по сравнению с контрольной группой, получавшей стандартную диету. Значимых различий по ИГ селезенки между всеми экспериментальными группами не наблюдалось.

Результаты исследования уровней NO_3^- и SO_4^{2-} в сыворотке крови спонтанно-гипертензивных крыс, получавших стандартную или малобелковую соевую диеты, представлены в таблице 2. Из таблицы видно, что существенных различий по уровню NO_3^- на данных сроках наблюдения между анализируемыми группами не выявлено. Однако у крыс, получавших 10% соевую диету (ложнооперированных или подвергнутых НЭ), отмечено увеличение SO_4^{2-} в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, проведенное исследование показало, что малобелковая соевая диета у спонтанно-гипертензивных крыс, подвергнутых НЭ, оказывает протективное действие на сердечно-сосудистую систему, предотвращая рост АД и увеличение массы миокарда.

ОБСУЖДЕНИЕ

Наличие ХБП, независимо от характера почечного заболевания, свидетельствует о высоком уровне кардиоваскулярного риска. При нарушении функции почек у больных выявляются АГ, гипертрофия ЛЖ, интерстициальный миокардиальный фиброз, изменение капиллярного ложа [22, 23].

Проведенные нами исследования также выявили увеличение массы миокарда ЛЖ и дальнейшее существенное повышение АД у спонтанно-гипертензивных крыс (с генетически обусловленным исходно высоким уровнем АД), содержащихся 2 месяца после экспериментального уменьшения почечной ткани на стандартной диете. Видимо, уже на ранних сроках

Уровень неорганических анионов сыворотки крыс, получавших диеты с различным содержанием белка ($\bar{X} \pm m$)

Группы крыс	n	Нитраты, ммоль/л	Сульфаты, ммоль/л
1 Ложноопер. (станд. диета)	8	0,391±0,021	2,05±0,05
2 НЭ 2 мес. (станд. диета)	7	0,391±0,031	2,23±0,08
3 Ложноопер. (МБД)	10	0,387±0,028	2,78±0,10
4 НЭ 2 мес. (МБД)	9	0,314±0,056	2,72±0,11
p ₁₋₂		> 0,05	> 0,05
p ₁₋₃		> 0,05	0,00001
p ₂₋₄		> 0,05	0,02

после НЭ запускаются механизмы, осуществляющие изменения на молекулярном уровне, на уровне экспрессии генов, ответственных за синтез определенных белков, приводящих к гипертрофии миокарда.

Гипертрофия диагностируется у большинства пациентов в додиализный период и рассматривается как одна из важнейших причин нарушения расслабления ЛЖ [22, 24]. Однако особое значение в клинической практике имеет трактовка начального развития гипертрофии ЛЖ при ХБП в качестве компенсаторной реакции на увеличение прессорной нагрузки на сердце и универсального механизма поддержания насосной функции сердца. До определенного момента это обратимый процесс. Скорость развития декомпенсации гипертрофированного сердца зависит от характера перегрузки, выраженности гипертрофии миокарда и ее длительности. В конечном итоге гипертрофия может привести к диастолической и систолической дисфункции ЛЖ. Патогенез гипертрофии миокарда при ХБП недостаточно ясен и требует дальнейшего исследования. Традиционно считают, что гипертрофия возникает в ответ на перегрузку давлением или объемом [25]. В нашем исследовании у крыс с НЭ признаков гиперволемии выявлено не было. Вероятнее всего гипертрофии миокарда у спонтанно-гипертензивных крыс могли способствовать как прогрессирующая АГ, так и негемодинамические причины. В то же время некоторые авторы отмечают, что при ХБП корреляция массы миокарда ЛЖ с уровнем АД, как правило, незначительна [26]. Таким образом, способствуя развитию гипертрофии миокарда, АГ не является единственной причиной ее возникновения при патологии почек.

Существенным фактором риска гипертрофии ЛЖ следует считать вторичный гиперпаратиреоз, часто развивающийся при ХБП. В проведенных ранее исследованиях нами также было выявлено повышение уровня паратиреоидного гормона (ПТГ) в сыворотке крови крыс Wistar через 1-2 месяца после НЭ [27]. ПТГ влияет на инсулин-подобный фактор роста, стимулирует синтез kontraktilных и неkontraktilных белков, которые обуславливают морфофункциональную перестройку миокарда [28]. Кроме того, активируя фибробласты, ПТГ способствует отложению коллагенов в периваскулярном пространстве и развитию диффузного интерстициального фиброза [29].

В настоящее время единого мнения о преобладающей роли какого-либо фактора в развитии гипертрофии миокарда нет. Скорее всего, она имеет комплексную природу. Подчеркивая значение фак-

торов, тесно связанных с функционированием почек в развитии сердечно-сосудистых нарушений и, прежде всего, влияющих на прогрессирование АГ, гипертрофии ЛЖ, атеросклероза, до конца объяснить поражение миокарда при ХБП воздействием только традиционных факторов риска не всегда удается. Становится очевидным влияние и других причин, так называемых нетрадиционных, в частности гипергомоцистеинемии, оксидативного стресса, анемии, которые способствуют не только снижению функции почек, но и развитию сердечно-сосудистых осложнений.

Современные подходы к лечению ХБП включают применение МБД, направленных на уменьшение уремической интоксикации, замедление прогрессирования почечной недостаточности. Наши исследования показали, что МБД с включением 10% соевого белкового изолята оказывает кардиопротективное действие у крыс линии SHR с экспериментальной почечной недостаточностью, предотвращая повышение уровня АД и увеличение массы миокарда ЛЖ.

Согласно современным представлениям о патогенезе АГ, одним из ведущих факторов повышения АД является эндотелиальная дисфункция. Уровни продуктов метаболизма NO – нитратов и нитритов – в сыворотке крови больных АГ и пациентов со средней и тяжелой стадией ХБП значительно снижаются по сравнению с общей популяцией, что указывает на падение синтеза NO [30]. Изменение в метаболизме NO может быть одним из механизмов, посредством которого дисфункция эндотелия ведет к росту уровня АД и развитию атеросклероза [31]. Так как уровень нитратов в сыворотке крови спонтанно-гипертензивных крыс с НЭ на МБД не отличался от показателя животных, содержащихся на стандартной диете, то можно полагать, что при данном процентном содержании соевого белка существенную роль в регуляции АД играют факторы, отличные от NO. В то же время наши предварительные исследования показали, что высокобелковая (50%) соевая диета способна влиять и на метаболизм оксида азота, так как при ее потреблении у спонтанно-гипертензивных крыс с НЭ повышается уровень сывороточных нитратов.

В случае малобелковой соевой диеты мы полагаем, что существенная роль в антигипертензивном эффекте принадлежит содержащимся в сое пептидам, обладающим свойствами ингибиторов ангиотензин-конвертирующего фермента. Ряд авторов также считает, что именно они опосредуют антигипертензивный эффект соевых белков у самок SHR [32]. Нельзя исключать возможную роль

в регуляции АД нормализации липидного профиля и кальциевого обмена у крыс с НЭ на фоне приема соевой диеты. Кроме того, за счет низкого содержания метионина соевая диета может предотвращать развитие гипергомоцистеинемии (одного из факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний) при почечной недостаточности и снижать, тем самым, эндотелиальную дисфункцию. В настоящее время показана роль гипергомоцистеинемии в росте АД при патологии почек [33].

Хорошо известно, что белки животного происхождения являются основным источником фосфатов [34]. Потребление их в большом количестве способствует возникновению гиперфосфатемии и развитию вторичного гиперпаратиреоза у пациентов с нарушением функции почек. Соевые протеины, в отличие от животных белков, практически не содержат фосфора. Уменьшение поступления фосфора в составе соевой диеты, поддержание фосфорно-кальциевого гомеостаза, замедление развития вторичного гиперпаратиреоза, поддержание уровня среднего АД на исходном генетически предопределенном уровне существенно снижает выраженность гипертрофии миокарда у спонтанно-гипертензивных крыс с НЭ. Однако благоприятный эффект обусловлен, скорее всего, не только процентным содержанием соевого белка в диете, но и его качественным составом.

Существует предположение, что соевые протеины могут ингибировать факторы роста и пролиферацию кардиомиоцитов через механизм, опосредованный эстрогеновыми рецепторами. Не исключено их влияние на факторы роста, вовлеченные в синтез внеклеточного матрикса и фиброгенез. Кроме того, соевые белки способны ингибировать вызванную цитокинами активацию транскрипционных процессов [35]. Вероятно, эти механизмы определяют и снижение массы печени («портально-сердца») у крыс линии SHR, получавших 10% соевую диету, по сравнению с животными, потреблявшими стандартный рацион. Однако ответ на вопрос о преобладании конкретного механизма в осуществлении протективного действия соевых белков остается открытым и требует дальнейших исследований.

Следует отметить, что в патологии сердечно-сосудистой системы при ХБП задействованы различные патологические схемы, поэтому нет оснований пренебрегать каким-либо корректирующим воздействием на механизмы, способные замедлять или предотвращать прогрессирование функциональных и структурных нарушений. Малобелковая диета в сочетании с соевым белком в определенной степени отвечает этой задаче.

Естественно, что МБД должна сочетаться с другими средствами, направленными на замедление прогрессирования ХБП и ее осложнений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование показало, что МБД, включающая соевый белковый изолят SUPRO 760, обладает кардиопротективным действием у спонтанно-гипертензивных крыс с экспериментальной почечной недостаточностью, уменьшая выраженность гипертрофии миокарда и предотвращая рост среднего АД. Кроме того, соевая диета снижала гипертрофию печени как у ЛО крыс линии SHR, так и у животных после НЭ.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Каюков ИГ. Кардиоренальный континуум: патологические основы превентивной нефрологии. *Нефрология* 2005; 9(3):7-15
2. Perera GA. Hypertensive vascular disease: description and natural history. *J Chron Dis* 1955; 1: 33-42
3. U.S. Renal Data System. USDRS 2001. Annual Data Report, Bethesda, M.D., National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. 2001
4. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Румянцев АШ и др. Факторы риска ИБС у больных, получающих лечение гемодиализом. *Нефрология* 2003; 7(приложение 1): 7-13
5. Anavekar NS, Me Murray JV, Velazquez EJ et al. Relation between renal dysfunction and cardiovascular outcomes after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2004; 351:13
6. Anavekar NS, Preffer MA. Cardiovascular risk in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2004; 66 [Suppl 92]: S11-S15
7. Жлоба АА. Спектрофотометрические методы измерения в клинической энзимологии. Изд-во СПбГМУ, СПб, 2005; 29-32
8. Кучер АГ. Проблемы лечебного питания у больных с ХПН. *Нефрология* 1997; 1: 39-45
9. Passey C, Bunker V, Jackson A, Lee H. Energy balance in predialysis patients on a low-protein diet. *J Ren Nutr* 2003; 13(2): 120-125
10. Fournier DB, Erdman JW, Gordon GB. Soy, its components and cancer prevention: a review of the in vitro, animal and human data. *Cancer Epidemiology, Biomarkers Prevention (Baltimore)* 1998; 7(11): 1055-1065
11. Garcia M, Torre M, Marina ML et al. Composition and characterization of soyabean and related products. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1997; 37(4): 361-391
12. Хенли ЕС, Кустер ДМ. Оценка качества белка с помощью скорректированного аминокислотного коэффициента усвояемости белка. Соевые белки СУПРО в клинической медицине. М.: *Протеин Технолоджис Инт* 1999: 5-13
13. Tonstad S, Smerud K, Hoie L. A comparison of the effects of 2 doses of soy protein or casein on serum lipids, serum lipoproteins, and plasma total homocysteine in hypercholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr* 2002; 76(1):78-84
14. Fair DE, Ogborn MR, Weiler HA et al. Dietary soy protein attenuates renal disease progression after 1 and 3 weeks in: SPRD-cy weanling rats. *J Nutr* 2004; 134(6): 1504-1507
15. Messina M, Gardner C, Barnes S. Gaining insight into the health effects of soy but a long way still to go; commentary on the fourth International Symposium on the Role of Soy in Preventing and Treating Chronic Disease. *G Nutr* 2002; 132(2): 547S-551S
16. Pedraza-Chaverri J, Barrera D, Hernandez-Pando R et al. Soy protein diet ameliorates renal nitrotyrosine formation and chronic nephropathy induced by puromycin aminonucleoside. *Life Sci* 2004; 74(8): 987-999

17. Wu J, Ding X. Hypotensive and physiological effect of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides derived from soy protein on spontaneously hypertensive rats. *J Agric Food Chem* 2001; 49(1): 501-506
18. Ni W, Tsuda Y, Takashima S et al. Antiatherogenic effect of soya and rice-protein isolate, compared with casein, in apolipoprotein E-deficient mice. *Br J Nutr* 2003; 90(1):13-20
19. Sirtori CR, Gianazza E, Manzoni C et al. Role of isoflavones in the cholesterol reduction by soy proteins in the clinic. *Am J Clin Nutr* 1997; 65(1):166-167
20. Комарова НВ, Каменцев ЯС. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «Капель». ООО «Веда», СПб, 2006
21. Okoshi K, Ribeiro HB, Okoshi MP et al. Improved systolic ventricular function with normal myocardial mechanics in compensated cardiac hypertrophy. *Jpn Heart J* 2004; 45(4): 647-656
22. Шутов АМ, Куликова ЕС, Кондратьева НИ. Гипертрофия левого желудочка у больных в додиализном периоде хронической почечной недостаточности, не связанной с сахарным диабетом. *Нефрология* 2001; 5(5): 49-53
23. Bennett SJ, Welch JL, Eckert GJ et al. Nutrition in chronic heart failure with coexisting chronic kidney disease. *J Cardiovasc Nurs* 2006; 21: 56-62
24. Nuhbegovic S, Halibasic A, Karamelic J. Morphologic changes in the interventricular septum and the posterior wall of the left ventricle in patients on hemodialysis. *Med Arh* 2000; 54(2): 69-70
25. London GM. Pathophysiology of cardiovascular damage in the early renal population. *Nephrol Dial Transpl* 2001; 16 [Suppl 2]: 3-6
26. MacGowan GC, Wiczorek DF. Compensatory changes in Ca and myocardial O₂ consumption in beta-tropomyosin transgenic hearts. *Am J Physiol Heart Circulatory* 2001; 281(6): H2539-2548
27. Барабанова ВВ, Береснева ОН. Является ли паратиреоидный гормон основным повреждающим фактором сосудов печени при экспериментальной почечной недостаточности. *Нефрология* 1998; 2(1): 99-104
28. Qing DP, Ding H, Vadgama J et al. Elevated myocardial cytosolic calcium impairs insulin-like growth factor-1-stimulated protein synthesis in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10(1): 84-92
29. Amman K, Tornig J, Flechtenmacher C et al. Blood-pressure-independent wall thickening of intramyocardial arterioles in experimental uremia: evidence for a permissive action of PTH. *Nephrol Dial Transpl* 1995; 10: 2043-2048
30. Ильичева ОЕ. Факторы риска развития хронической сердечной недостаточности у пациентов с различными стадиями хронической болезни почек. *Нефрология* 2007; 11(1): 71-78
31. Channon KM, Qian H, George SE. Nitric oxide synthase in atherosclerosis and vascular injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(8): 1873-1881
32. Wu J, Ding X. Hypotensive and physiological effect of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides derived from soy protein on spontaneously hypertensive rats. *J Agric Food Chem* 2001; 49(1): 501-506
33. Sarnak MJ. Cardiovascular complications in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 41 [Suppl 5]: 11-17
34. Combe C, Aparicio M. Phosphorus and protein restriction and parathyroid function in chronic renal failure. *Kidney Int* 1994; 46: 1381-1386
35. Ranich T, Bhatena SJ, Velasquez MT. Protective effects of dietary phytoestrogens in chronic renal disease. *J Ren Nutr* 2001; 11(4): 183-193

Поступила в редакцию 5.06.2007 г.
Принята в печать 22.06.2007 г.

© А.Ю.Юлдашев, Р.Р.Рахманов, А.А.Юлдашев, М.В.Таринова, 2007
УДК 612.465.1:612.398+612.391]-092.4

А.Ю. Юлдашев, Р.Р. Рахманов, А.А. Юлдашев, М.В. Таринова

ГИСТОФИЗИОЛОГИЯ СОСУДИСТЫХ КЛУБОЧКОВ И ЮКСТАГЛОМЕРУЛЛЯРНОГО АППАРАТА ПОЧЕК ПОСЛЕ БЕЛКОВОЙ НАГРУЗКИ И ГОЛОДАНИЯ

A.Yu. Yuldashev, R.R. Rakhmanov, A.A. Yuldashev, M.V. Tarinova

HISTOPHYSIOLOGY OF VASCULAR GLOMERULES AND JUXTAGLOMERULAR APPARATUS OF KIDNEYS AFTER PROTEIN LOAD AND STARVATION

Кафедра гистологии и медицинской биологии Ташкентской медицинской академии, Узбекистан

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: изучить в динамике состояние капилляров клубочков поверхностных и юкстамедуллярных нефронов и ультраструктуру ЮГА почек после белковой нагрузки и голодания. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Экспериментально у 30 белых беспородных крыс-самцов массой 120 - 140 г у контрольных (I группа), после внутривентриального введения 5,0 см³ 6% раствора альбумина через 1 и 3 суток (III группа) и голодания через 1 и 6 суток (II группа) морфологически изучены степень открытия капилляров (СОКК) клубочков поверхностных и юкстамедуллярных нефронов, ультраструктура юкстагломерулярного аппарата (ЮГА). **РЕЗУЛЬТАТЫ.** После белковой нагрузки через сутки наблюдается расширение афферентной и сужение эфферентной артериол, увеличение доли клубочков с большей СОКК; активация клеток ЮГА. Через 3 суток при нормализации структуры ЮГА, СОКК как поверхностных, так и юкстамедуллярных нефронов больше, чем у контрольных животных. При голодании через 3 суток СОКК обеих типов нефронов увеличена, активации ЮГА не наблюдается. Через 6 суток СОКК увеличена и синхронизируется только в юкстамедуллярных нефронах; ЮГА находится в гипофункциональном состоянии. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Структурно-функциональные особенности клеток ЮГА и капилляров клубочков поверхностных и юкстамедуллярных нефронов закономерны и направлены на увеличение функционального резерва, поддержание гомеостаза, отражают многоуровневый принцип саморегуляции и интеграции, системный принцип усложнения структур и функций почки.

Ключевые слова: почка, клубочки, юкстагломерулярный аппарат, белковая нагрузка, голодание, гистофизиология.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to study in dynamics the state of the capillaries of glomerules of the superficial and juxtaglomerular nephrons and the ultrastructure of juxtaglomerular apparatus (JGA) of the kidneys after protein load and starvation. **MATERIAL AND METHODS.** The experiments were carried out in 30 white outbred male rats with body mass 120-140 g. Morphological investigation of the degree of opening the glomerular capillaries of the superficial and juxtaglomerular nephrons and the ultrastructure of JGA was made in a control group consisting of animals 1 day after intraperitoneal administration of 5.0 cm³ of 6% solution of albumin, after 3 days (the 3rd group) and after 1 and 6 days of starvation (the 2nd group). **RESULTS.** Dilatation of the afferent and constriction of efferent arteriols, increased portion of glomerules with greater degree of opening the capillaries (DOC) and activation of JGA cells were observed in a day after protein load. Three days later, with normalization of JGA structure, DOC of both superficial and juxtaglomerular nephrons was greater than in control animals. After 3 days of starvation DOC in both types of nephrons was increased and there was no activation of JGA. In 6 days DOC was increased and was synchronized in juxtaglomerular nephrons only; JGA was in hypofunctional state. **CONCLUSION.** The structural-functional features of the cells of JGA and glomerular capillaries of superficial and juxtaglomerular nephrons are naturally determined and directed to an increase of the functional reserve, maintenance of homeostasis, correspond to multi-level principle of self-regulation and integration, systemic principle of complicating the structures and functions of the kidney.

Key words: kidney, glomerules, juxtaglomerular apparatus, protein load, starvation, histophysiology.

ВВЕДЕНИЕ

Почки млекопитающих после различных функциональных нагрузок способны значительно повышать скорость клубочковой фильтрации (КФ) по сравнению с исходным, относительно функционального покоя, уровнем. Разность между исходным и максимальным уровнями функционирования клубочков почек, рассматриваемая как почечный фун-

кциональный резерв [1], у здоровых лиц колеблется от 10 до 60% и, по мнению А.И. Гоженко и соавт. [2], обусловлена вазодилатацией приводящей артериолы клубочков, которая вызывает увеличение клубочковой фильтрации. Однако структурные основы этого изменения уровня клубочковой фильтрации расшифрованы недостаточно. По мнению А.А. Волощенко и С.В. Талалаева [3], сосудистые

клубочки имеют сетевой принцип организации, который, изменяя кровоток в отдельных ячейках, регулирует кровоток и фильтрацию, оптимизирует деятельность органа, обеспечивает гомеостаз внутренней среды. Исходя из этого, в настоящей работе поставлена цель: изучить в динамике состояние капилляров клубочков поверхностных и юкстамедуллярных нефронов и ультраструктуру юкстагломерулярного аппарата почек после белковой нагрузки и голодания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыты поставлены на 30 белых беспородных крысах-самцах массой 120 – 140 г в следующих сериях: I – контрольная (интактные); II – голодающие в течение 3 и 6 суток; III – 1 и 3 суток после внутрибрюшинного введения 5,0 см³ 6% раствора альбумина на физиологическом растворе. Во всех сериях экспериментов правая почка разрезалась через середину от выпуклой поверхности к области ворот. Затем параллельно плоскости разреза вырезалась пластинка толщиной 1,5 мм и корковое вещество отделялось от мозгового. В последующем корковая часть почки разрезалась на три равные части: внутреннюю, промежуточную и поверхностную. Ткань коры почки, соответствующая поверхностным и юкстамедуллярным нефронам, фиксировали в 2,5% растворе глютар-альдегида (20 мин.) и 1% растворе осмиевой кислоты (1 ч).

После стандартной проводки ткань заливалась в аралдит. Полутонкие срезы толщиной 1 – 2 мкм для морфометрии капилляров клубочков окрашивали метиленовым синим и основным фуксином. Ультратонкие срезы контрастировали уранил ацетатом и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM – 100 S. Морфометрию площади сосудистых клубочков и площади открытых капилляров осуществляли с помощью полуавтоматического анализатора изображений «Интеграл – 2 М».

На основании полученных результатов вычисляли степень открытия капилляров сосудистых клубочков (СОКК)

$$\text{СОКК} = \frac{S_1}{S_2} \times 100 \%$$

S_1 – площадь открытых капилляров сосудистого клубочка,

S_2 – площадь сосудистого клубочка.

По величине СОКК выделены 5 классов клубочков с шагом 10%: I (0,0 – 9,9%),

II (10,0 – 19,9%), III (20,0 – 29,9%), IV (30,0 – 39,9%), V (40,0% и более).

Данные количественных исследований обработаны методами вариационной статистики [4] с определением средней арифметической (\bar{X}) и ее ошибки (m). Значения достоверны при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У контрольных животных юкстагломерулярные клетки афферентной артериолы являются основным ренин-продуцирующим компонентом юкстагломерулярного аппарата (ЮГА) почек. Они полигональной формы, содержат многочисленные органеллы: профили шероховатого ретикулума, которые равномерно распределены по всей цитоплазме, тесно взаимодействуют с округлыми, умеренной величины митохондриями; комплекс Гольджи локализуется около ядра. Секреторные гранулы (СГ) в умеренном количестве, округлые, высокой электронной плотности, равномерно распределены по всей цитоплазме. Эти данные свидетельствуют об их умеренной функциональной активности.

В стенке эфферентной артериолы юкстагломерулярные клетки более мелкие и содержат СГ в меньшем количестве, чем в стенке афферентной артериолы. Клетки плотного пятна цилиндрической формы, базальные складки единичные, невысокие, не контактируют с митохондриями, диффузно распределены по цитоплазме. В участках контакта плазмолеммы клеток базальная мембрана тонка, прерывиста.

Юкставаскулярные клетки, расположенные между афферентной и эфферентной артериолами, неправильной вытянутой формы, бедны органеллами, богаты рибосомами и полисомами. Мезангиальные клетки располагаются между капиллярами клубочка, по ультраструктуре почти идентичны юкставаскулярным.

Через три дня голода афферентная артериола выстлана уплощенным эндотелием, юкстагломе-

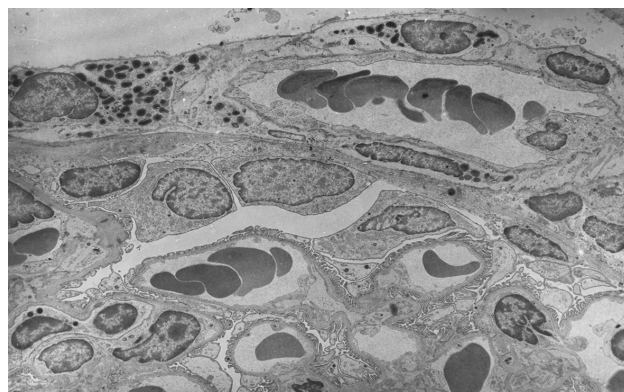


Рис. 1. Уплотнение эндотелия и расширение афферентной артериолы, секреторные гранулы в юкстагломерулярных клетках сосудистого клубочка поверхностного нефрона почки через 3 дня голода. Увеличение $\times 4400$.

Динамика степени открытия капилляров клубочков в наружной зоне коркового вещества почки при голодании ($\bar{X} \pm m\%$, n=6)

Продолжительность голодания, сутки	Степень открытия капилляров			
	I	II	III	IV
Контроль	28,1±0,9	32,6±0,7	25,7±0,8	13,6±0,5
3	3,4±0,3*	36,0±0,8*	55,2±1,0*	5,4±0,3*
6	28,2±0,7*	62,1±0,9*	9,7±0,4*	—

Динамика степени открытия капилляров клубочков во внутренней зоне коркового вещества почки при голодании ($\bar{X} \pm m\%$, n=6)

Продолжительность голодания, сутки.	Степень открытия капилляров			
	I	II	III	IV
Контроль	34,8±0,8	41,7±0,8	23,5±0,5	-
3	15,7±0,4	62,3±0,7	22,0±0,7	-
6	17,5±0,6	41,4±0,9	41,1±0,8	-

Динамика степени открытия капилляров клубочков в наружной зоне коркового вещества почки после однократной белковой нагрузки ($\bar{X} \pm m\%$, n=6)

Время после нагрузки, сутки	Степень открытия капилляров			
	I	II	III	IV
Контроль	28,1±0,9	32,6±0,7	25,7±0,8	13,6±0,5
1	2,6±0,3*	25,2±0,6*	46,3±1,0*	25,9±0,7*
3	15,7±0,5*	26,3±0,6*	40,8±0,8*	17,2±0,3*

Динамика степени открытия капилляров клубочков во внутренней зоне коркового вещества почки после однократной белковой нагрузки ($\bar{X} \pm m\%$, n=6)

Время после нагрузки, сутки	Степень открытия капилляров			
	I	II	III	IV
Контроль	34,8±0,8	41,7±0,8	23,5±0,5	—
1	11,2±0,3*	30,2±0,7*	35,3±0,6*	23,3±0,8*
3	26,7±0,7*	32,6±0,8*	32,9±0,7*	7,8±0,6*

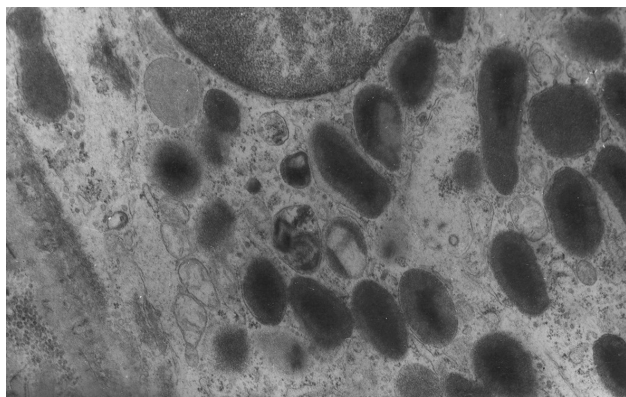


Рис. 2. Увеличение полиморфных секреторных гранул в юкстагломерулярных клетках афферентной артериолы сосудистого клубочка поверхностного нефрона через 6 дней голода. Увеличение $\times 21000$.

рулярные клетки становятся крупнее, содержат полиморфные ядра; большая часть цитоплазмы заполнена СГ (рис. 1). Между СГ располагаются мелкие округлые митохондрии и короткие профили ШЭР; комплекс Гольджи выявляется около ядра и состоит из уплощенных цистерн и мелких везикул. Эфферентная артериола выстлана кубическим эндотелием, миоэпителиальные клетки лишены СГ, бедны органеллами.

Цилиндрические клетки плотного пятна высокой плотности, с округлыми ядрами, митохондрии удлинённые с многочисленными кристами. Комплекс Гольджи смещен к боковой плазмолемме, образован мелкими везикулами. В цитоплазме возрастает число свободных рибосом и полисом, а также мелких везикул. Базальная плазмолемма почти не контактирует с юкставакулярыными клетками, которые становятся мельче и плотнее; митохондрии единичны, профили ШЭР короткие. Аналогичную структуру приобретают и мезангиоциты.

Через 6 дней голодания ультраструктурные признаки гипофункции становятся более выраженными (рис. 2). Таким образом, голодание с течением времени вызывает гипофункцию структур ЮГА.

Исследование СОКК наружной зоны коркового вещества почки через 3 суток голода свидетельствует об уменьшении доли I и IV классов более, чем в 2 раза, увеличении III класса (табл. 1). Во внутренней зоне коркового вещества уменьшается доля клубочков I класса, в 1,5 раза возрастают клубочки II класса. Уменьшение СОКК и увеличение доли II и III (наружная зона), II (внутренняя зона) классов свидетельствует о синхронизации деятельности основной массы клубочков почки.

Через 6 дней голодания в наружной зоне фильтрация, видимо, уменьшается: СОКК II класса возрастает в 1,9 раза, III класса уменьшается в 2,5 раза, I класс достоверно не различается по сравнению с показателями у контрольных животных (см. табл. 1).

Во внутренней зоне коры почки фильтрация возрастает при почти двукратном уменьшении СОКК I класса, возрастает III класс (в 1,75 раза), II класс без изменения по сравнению с контролем (табл. 2).

Следовательно, через 6 дней голода СОКК клубочков коркового вещества имеет разнонаправленный характер: уменьшается доля функционирующих капилляров в наружной зоне и возрастает во внутренней.

Через сутки после внутрибрюшинного введе-

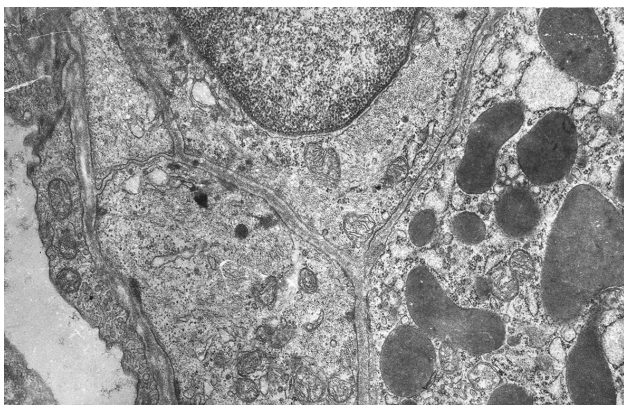


Рис. 3. Уплотнение эндотелия расширенного просвета афферентной артериолы, расширение профилей шероховатого ретикулула и электронноплотные секреторные гранулы юкстагломерулярных клеток сосудистого клубочка поверхностных нефронов через 3 суток после внутрибрюшинного введения белка. Увеличение $\times 30000$.

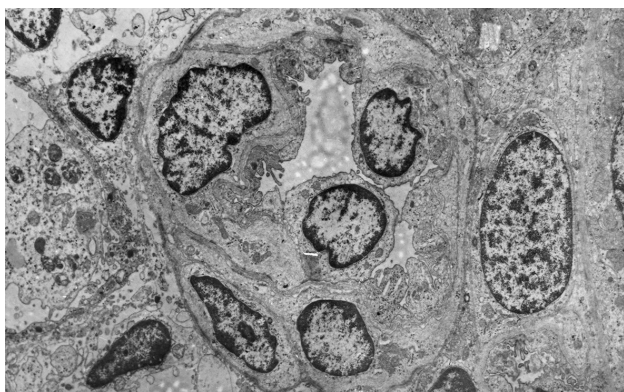


Рис. 4. Сужение просвета эфферентной артериолы и выпуклые эндотелиальные клетки сосудистого клубочка поверхностного нефрона почки через сутки после внутрибрюшинного введения белка. Увеличение 10000 .

ния раствора белка афферентная артериола расширяется, выстилающие ее эндотелиальные клетки становятся уплощенными. В юкстагломерулярных клетках профили ШЭР расширяются, контактируют с крупными митохондриями, комплекс Гольджи в основном состоит из вакуолей, СГ высокой плотности равномерно распределены по всей цитоплазме, численно меньше, чем у интактных животных (рис. 3).

Эфферентная артериола сужается (рис. 4), выстлана выпуклым эндотелием, юкставаскулярные клетки бедны органеллами, богаты рибосомами и полисомами; СГ практически отсутствуют.

Эпителиальные клетки плотного пятна просветлены, на свободной поверхности имеют многочисленные короткие микроворсинки. Базальная и латеральная плазмолемма образует многочисленные складки. Митохондрии чаще располагаются у апикальной поверхности.

Юкставаскулярные клетки становятся крупнее из-за гиперплазии органелл, полигональны, имеют мелкие плотные СГ.

Мезангиальные клетки становятся крупнее и

плотнее. В цитоплазме наблюдается гиперплазия ШЭР, митохондрии укрупняются. Около ядра появляются электронноплотные СГ; цитоплазматические отростки могут выбухать в просвет капилляров клубочков.

Через 3 суток ультраструктура клеток ЮГА почти нормализуется.

При исследовании СОКК в наружной зоне коры через сутки после однократного внутрибрюшинного введения белка характеризуется увеличением доли III (в 1,8 раза) и IV (в 1,9 раза) классов. Во внутренней зоне коры почки при значительном уменьшении СОКК I класса (в 3,1 раза), II класса (1,38 раза), возрастают – III (1,5 раза) и появляются – IV класса, что свидетельствует об усилении скорости клубочковой фильтрации во всех типах нефронов коры (табл. 3).

Через 3 суток доля клубочков с увеличенной СОКК уменьшается, но остается еще больше, чем у контрольных животных (табл. 4), что указывает на активную клубочковую фильтрацию как в наружной, так и во внутренней зоне коры почки.

ОБСУЖДЕНИЕ

Через сутки после внутрибрюшинного введения белка увеличение СОКК как поверхностных, так и юкстамедуллярных нефронов, повышение давления в капиллярах из-за расширения просвета афферентной и сужения эфферентной артериол, активацию клеток ЮГА следует расценивать как закономерную структурно-функциональную адаптивную реакцию почки, которая направлена на нивелирование основных параметров гомеостаза (осмотическое и онкотическое давление, концентрация ионов, рН крови и т.д.). Благодаря гистофизиологическим особенностям клубочков различных типов нефронов, а также сложной нейрогуморальной структуре и функции нефронов и собирательных трубок (ренин-ангиотензин-альдостероновой, вазопрессинной, простагландиновой систем) возрастает почечный кровоток, клубочковая фильтрация [5–7].

По мнению Д. Ремuzzi и Т. Бертани [8], одновременная активация клеток ЮГА вызывает возрастание ангиотензина II внутри почки больше, чем в циркулирующей крови. Он прямо влияет на проницаемость базальной мембраны фильтрационного барьера, что усиливает протеинурию и способствует поддержанию гомеостаза крови.

Согласно исследованиям, отмеченные реакции могут быть обусловлены экскрецией дополнительных количеств осмотически активных веществ (мочевины, протеинов), изменением состава канальцевой жидкости, притекающей к области плот-

ного пятна (уменьшается концентрация хлора). Причинами гиперфльтрации (даже через 3 суток) кроме активации ренин-ангиотензиновой системы, могут быть усиление синтеза NO, изменение гомеостаза и (или) почечного транспорта кальция [6].

Структурно-функциональные перестройки капилляров клубочков, ЮГА, надо полагать, происходят из-за перераспределения эндогенного пула белков, изменения их концентрации, аминокислот, мочевины в циркулирующей крови. При голодании особенности метаболизма белка также вызывают увеличение мочевины, NO, осмотичности крови.

Переменяющаяся деятельность поверхностных и юкстамедуллярных нефронов почек при белковой нагрузке и голодании в динамике позволяет поддерживать оптимальный режим расходования и восстановления структур как фильтрационного барьера, так и других структур почки, ответственных за поддержание гомеостаза. Повышенная надежность и эффективность их функционирования подкрепляется многоуровневым принципом саморегуляции и интеграции, системным принципом усложнения структур и функций органа [3, 9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внутрибрюшинное введение раствора альбумина или голодание как варианты питания вызывают в почке, чрезвычайно чувствительной к количественным и качественным ее сдвигам, структурно-функциональные перестройки в клетках ЮГА и

капиллярах клубочков поверхностных и юкстамедуллярных нефронов. Они закономерны, направлены на увеличение функционального резерва, поддержание гомеостаза, отражают многоуровневый принцип саморегуляции и интеграции, системный принцип усложнения структур и функций почки.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Bosch JP, Saccaggi A, Lauer A et al. Renal functional reserve in humans effect of protein intake on glomerular filtration rate. *Am J Med* 1983; 75 (6): 943–950
2. Гоженко АИ, Куксань НИ, Гоженко ЕА. Методика определения почечного функционального резерва у человека. *Нефрология* 2001; 5 (4): 70–73
3. Волощенко АА, Талалаев СВ. Новый подход к выяснению гистофизиологических процессов в почечных клубочках. *Нефрология* 1999; 3 (2): 30–36
4. Лакин ГМ. *Биометрия*. Высшая школа, М., 1990
5. Есаян АМ. Тканевая ренин-ангиотензиновая система почки. Новая стратегия ренопротекции. *Нефрология* 2002; 6 (3): 10–14
6. Кучер АГ, Каюков ИГ, Есаян АМ, Ермаков ЮА. Влияние количества и качества белка в рационе на деятельность почек. *Нефрология* 2004; 8 (2): 14–34
7. Первезенцева ЮБ, Смирнова НН, Румянцева ИВ, Беляев АП. Особенности ренальной гемодинамики в условиях функциональной нагрузки. *Нефрология* 2003; 7 (1): 51–57
8. Ремуззи Д, Бержани Т. Патопфизиология прогрессирующих нефропатий (обзор). *Международный медицинский журнал* 1999; 1–2: 78–85
9. Юлдашев АЮ, Рахманов РР, Юлдашев МА, Ботирбекова ТМ. Принцип системогенеза и особенности нефрогенеза. *Мед ж Узбекистана* 2005; 6: 51–56

Поступила в редакцию 19.04.2007 г.

Принята в печать 22.06.2007 г.

© А.И.Гоженко, М.В.Трусова, 2007
УДК 616.61-008.64-036.92-02:615.872.4]:615.272-092.4

А.И. Гоженко, М.В. Трусова

ВЛИЯНИЕ ГЛЮТАРГИНА И АРГИНИНА НА ТЕЧЕНИЕ ИНДУЦИРОВАННОЙ ИФОСФАМИДОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У БЕЛЫХ КРЫС

A.I. Gozhenko, M.V. Trusova

EFFECTS OF GLUTARGINE AND ARGININE ON THE COURSE OF IFOSFAMIDE INDUCED EXPERIMENTAL RENAL FAILURE IN WHITE RATS

Лаборатория экспериментальной и клинической патологии Научно-исследовательского института медицины транспорта, г. Одесса, Украина

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Экспериментальное исследование нефропротекторного эффекта аргинина и глютаргина у крыс, получавших цитостатик ифосфамид. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Нефротоксическое влияние ифосфамида изучали на белых крысах в условиях 5% водного диуреза через 7 суток после ежедневного в/б введения цитостатика в количестве 5 мг/100 г м.т. Защитное действие аргинина или глютаргина исследовали в условиях водного диуреза после 7-суточного комбинированного введения ифосфамида и одного из препаратов. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Установлено, что введение ифосфамида белым крысам в течение 7 суток вызывает умеренное снижение скорости клубочковой фильтрации и значений стандартизированной на 1 мл клубочкового фильтрата экскреции осмотически активных веществ и белка. В свою очередь, комбинированное с ифосфамидом введение животным глютаргина или аргинина способствует восстановлению величины скорости клубочковой фильтрации и нормализации почечного транспорта осмотически активных веществ и протеинов. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Нефротоксическое действие ифосфамида реализуется на канальцевом и клубочковом уровне, а глютаргин и аргинин снижают степень повреждения почек.

Ключевые слова: ифосфамид, нефротоксичность, нефропротекция, аргинин, глютаргин.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to study in experiments the nephroprotective effect of arginine and glutargine in rats receiving cytostatic ifosfamide. **MATERIALS AND METHODS.** The nephrotoxic effects of ifosfamide were studied in white rats under conditions of 5% water diuresis in 7 days after daily administration of the cytostatic (5 mg/100 g b.m). Protective effects of arginine or glutargine were studied under conditions of water diuresis after the 7-day combined administration of ifosfamide and one of the substances. **RESULTS.** It was found that administration of ifosfamide to white rats during 7 days caused a moderate decrease of glomerular filtration rate and the values of standardized per 1 ml of the glomerular filtrate of excretion of osmotically active substances and proteins. In its turn, a combined administration to the animals of glutargine and arginine contributes to re-establishment of the glomerular filtration rate and normalization of transport of osmotically active substances and proteins. **CONCLUSION.** The nephrotoxic effects of glutargine and arginine are realized at the channel and glomerule level, and glutargine and arginine decrease the degree of kidney lesion.

Key words: ifosfamide, nephrotoxicity, nephroprotection, glutargine, arginine.

ВВЕДЕНИЕ

По данным литературы, хроническое введение пациентам противоопухолевого препарата ифосфамида вызывает отчетливый нефротоксический эффект, проявляющийся наряду с поражением канальцевого отдела нефрона [1] в патологических изменениях кровеносных сосудов почки [2] и склерозировании клубочков [3]. Поскольку полная отмена или замена препарата в большинстве клинических случаев невозможна, предпринимаются попытки минимизировать его нефротоксическое действие [4,5]. Возможно, нарушение путей биотрансформации и метаболического клиренса ифос-

фамида, а также его высокотоксичных промежуточных метаболитов ферментными комплексами гепатоцитов вносит определенный вклад в усиление ренотропного влияния препарата [6]. Вместе с тем, в отечественной литературе предлагается к использованию аминокислота аргинин, способствующая нормализации деятельности почек в условиях ренальных дисфункций токсического генеза [7], а также фармакологический препарат глютаргин, повышающий устойчивость гепатоцитов к токсическим воздействиям различным ксенобиотиков, обладающий способностью к восстановлению внутриорганного кровотока [8]. Таким образом,

Влияние аргинина и глутаргина на функциональное состояние почек белых крыс, получавших ифосфамид в течение 7 суток ($\bar{X} \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль n=10	Ифосфамид гр.1, n=10	Ифосфамид +глутаргин гр.2, n=10	Ифосфамид +аргинин гр.3, n=10
Диурез, мл/ч/100 г м.т.	1,8±0,2	2,3±0,2	2,3±0,2	2,1±0,2
Креатинин мочи, мкмоль/л	1807±92 p<0,01	971±70	1184±46 p<0,05	1257±51 p<0,01
Экскреция креатинина, мкмоль/ч/100 г м.т.	2,8±0,3 p<0,01	2,1±0,2	2,3±0,2	2,7±0,2 p<0,05
Белок мочи, мг/л	27±4	32±2	34±4	37±3
Экскреция белка, мг/ч/100 г м.т.	0,047±0,003	0,067±0,002	0,069±0,005	0,076±0,004
Осмоляльность мочи, мосм/кг H ₂ O	98±7	105±3	107±8	110±9
Экскреция осмотически активных веществ, мосм/ч/100 г М.Т.	0,16±0,01	0,23±0,02	0,23±0,02	0,23±0,02

n – число наблюдений; p – показатель достоверности отличий в сравнении с группой животных, получавших только ифосфамид.

целью данной работы было исследование нефропротекторного эффекта аргинина и глутаргина в условиях индуцированного цитостатиком ифосфамидом токсического поражения почек у белых крыс.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В эксперимент отбирали беспородных белых крыс-самцов с массой тела 100-120 г. Животных произвольным образом распределяли на 4 группы и содержали на стандартном рационе в течение всего эксперимента. Крысам 1-й группы (n=10) на протяжении 7 суток внутрибрюшинно вводили водный раствор ифосфамида (производства фирмы ASTA Medica AG, Германия) по 5 мг на 100 г м.т. Животным 2-й группы (n=10) ифосфамид вводили по выше указанной схеме, кроме того, через 5 часов после каждого введения ифосфамида крысам внутрибрюшинно вводили глутаргин (производства ФК «Здоров'я», Украина) по 4 мг на 100 г м.т. Животным 3 группы (n=10), на фоне назначения ифосфамида, вводили внутривенно водный раствор препарата L-аргинина гидрохлорида (производство Луганского ХФЗ, Украина) из расчета 2 мг на 100 г массы тела. Крысам контрольной группы (n=10) ежедневно вводили воду, не содержащую ифосфамида. Функциональное состояние почек животных исследовали по данным индуцированного водного диуреза в соответствии с описанной в литературе методикой [9]. С этой целью животным внутривенно металлическим зондом вводили отстоявшуюся водопроводную воду в объеме 5 % от массы тела и помещали для сбора мочи на 2 часа в обменные клетки. Из эксперимента животных выводили путем декапитации под легкой эфирной анестезией. Собранную кровь стабилизировали гепарином, центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин., а полученную плазму крови отбирали для дальнейших исследований. В полученных образцах мочи и плазмы крови определяли концентрацию креатини-

на фотометрическим методом в реакции с пикриновой кислотой [10] на спектрофотометре СФ-46 (Россия), осмоляльность – криоскопическим методом на осмометре 3D3 (США). Концентрацию белка в моче определяли фотометрически в реакции с сульфосалициловой кислотой [11]. Расчетные параметры деятельности почек вычисляли в соответствии с описанными в литературе формулами [9]. Показатели экскреции почками исследуемых веществ представлены в расчете на 100 г м.т. животных. Статистический анализ полученных данных проводили с использованием критерия Стьюдента по общепринятой методике.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно представленным в табл. 1 результатам исследований функции почек, введение животным только ифосфамида в течение 7 суток (1-я группа) вызывает умеренные изменения исследуемых показателей: понижение концентрации креатинина в моче в 2 раза и его экскреции на 25%. В свою очередь, комбинированное с ифосфамидом назначение глутаргина (2-я группа) или L-аргинина (3-я группа) способствует нормализации данных параметров в сравнении с 1-й группой. Отметим, что ни в одной из групп животных, получавших цитостатик не найдено статистически значимого повышения концентрации белка в моче, а также усиления экскреции почками белка или осмотически активных веществ.

Вместе с тем, использование клиренс-методов (табл. 2) позволяет установить достоверное уменьшение значений клиренса креатинина – маркера скорости клубочковой фильтрации в группе животных, получавших только ифосфамид. Наряду с этим, в ходе изучения деятельности почек животных в группах 2 и 3 установлено, что введение соответственно глутаргина и аргинина предотвращают падение уровня клиренса креатинина, вызван-

Таблица 2

Данные клиренс-метода о влиянии аргинина и глутаргина на деятельность почек белых крыс, получавших ифосфамид в течение 7 суток ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль n=10	Ифосфамид гр.1, n=10	Ифосфамид +глутаргин гр.2, n=10	Ифосфамид+ аргинин гр.3, n=10
Клиренс креатинина, мкл/мин Стандартизированная на 1 мл клубочкового фильтрата экскреция осмотически активных веществ, мосм/мл Стандартизированная на 1 мл клубочкового фильтрата экскреция белка, мг/мл	578±29p<0,01 (5,0±0,3)×10 ⁻³ p<0,01 (1,4±0,1)×10 ⁻³ p<0,01	438±42 (8,1±0,5)×10 ⁻³ (2,6±0,2)×10 ⁻³	640±48p<0,01 (5,8±0,3)×10 ⁻³ p<0,01 (1,6±0,2)×10 ⁻³ p<0,01	690±34p<0,01 (6,1±0,4)×10 ⁻³ p<0,01 (1,9±0,2)×10 ⁻³ p<0,05

n – число наблюдений; p – показатель достоверности отличий в сравнении с группой животных, получавших только ифосфамид.

ное ифосфамидом. Кроме того, в 1-й группе найден отчетливый прирост значений стандартизированной экскреции белка и осмотически активных веществ (ОАВ). Однако комбинированное с глутаргином и аргинином введение ифосфамида снижает темпы почечных потерь протеинов и ОАВ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно опубликованным в литературе данным, доза однократно вводимого крысам ифосфамида, составляет от 5 до 32 мг на 100 г массы тела в экспериментах по изучению кинетики препарата [12]. Кроме того, продолжительное введение цитостатика в количестве 5 мг на 100 г массы тела используется с целью моделирования индуцированной ифосфамидом почечной недостаточности [5]. При этом ежедневное назначение крысам ифосфамида в дозе по 5 мг/100 г м.т. в течение 5 суток сопровождается повреждением эпителия проксимального сегмента нефрона, снижением клиренса креатинина и более высокими темпами выделения почками натрия и фосфатов в условиях спонтанного диуреза [5]. Авторы указывают, что понижение скорости клубочковой фильтрации в данной серии экспериментов не является необратимым, что может свидетельствовать об адаптивном характере угнетения процессов фильтрации в ответ на ослабление эффективности проксимальной реабсорбции натрия и воды [13].

Результаты наших исследований демонстрируют, что назначение животным только ифосфамида в течение 7 суток по 5 мг на 100 г м.т. сопровождается умеренными изменениями параметров функционального состояния почек в условиях водной нагрузки: снижением скорости клубочковой фильтрации и повышением стандартизированных на 1 мл клубочкового фильтрата показателей экскреции почками белка и ОАВ. С другой стороны, введение глутаргина или аргинина в сочетании с ифосфамидом оказывает благоприятное воздействие на деятельность почек как на сосудисто-клубочко-

вом, так и на канальцевом уровнях. Подтверждением такого вывода является положительная динамика значений клиренса креатинина и стандартизированных параметров экскреции белка и ОАВ у животных 2-й и 3-й групп. По нашему мнению, такой позитивный ренотропный эффект исследуемых препаратов заслуживает внимания. Поскольку, согласно данным литературы, восстановлению величины скорости клубочковой фильтрации под влиянием гипернатриевой диеты у крыс в острый и подострый периоды токсического повреждения проксимального сегмента нефрона, как правило, сопутствует увеличение почечных потерь физиологически важных веществ: белков, неорганических фосфатов, воды [13]. В то же время, повышенная активность внутрипочечных гуморальных систем, обуславливающих устойчивое снижение клиренса креатинина, не только ухудшает экскреторную функцию почек, что актуально в условиях длительного курса цитостатика, но и создает предпосылки для неблагоприятного прогноза течения ренальных дисфункций [14]. Действительно, данные литературы подтверждают, что назначение аргинина крысам с экспериментальной патологией почек токсического генеза способствует восстановлению величины скорости клубочковой фильтрации, канальцевого транспорта веществ, а также уменьшению почечных потерь осмотически активных веществ и нормализации почечного кровотока [15]. Экспериментально подтверждено, что обогащенная аргинином диета снижает риск хронизации почечной недостаточности вследствие угнетения активности ренин-анготензиновой системы [16]. К сожалению, ренопротекторное действие глутаргина изучено недостаточно. Возможно, наличие в составе препарата молекулы аргинина играет определенную роль в реализации исследованного в данной работе фармакологического эффекта. В то же время нельзя исключить, что его способность усиливать резистентность органов и функциональных систем к воздействию

токсических факторов [8] имеет важное значение в снижении нефротропного эффекта ифосфамида.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Введение ифосфамида белым крысам в течение 7 суток вызывает умеренное снижение скорости клубочковой фильтрации и значений стандартизированной на 1 мл клубочкового фильтрата экскреции осмотически активных веществ и белка.

2. Комбинированное с ифосфамидом введение животным глутаргина или аргинина способствует восстановлению величины скорости клубочковой фильтрации и нормализации почечного транспорта осмотически активных веществ и протеинов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Rossi R, Godde A, Kleinebrand A et al. Concentrating capacity in ifosfamide-induced severe renal dysfunction. *Ren Fail* 1995; 17(5): 551-557
- Berns JS, Haghigat A, Staddon A et al. Severe, irreversible renal failure after ifosfamide treatment. A clinicopathologic report of two patients. *Cancer* 1995; 76 (3): 497-500
- Prasad VK, Lewis IJ, Aparicio SR et al. Progressive glomerular toxicity of ifosfamide in children. *Med Pediatr Oncol* 1996; 27(3): 149-155
- Bokemeyer C, Fels LM, Dunn T et al. Silibinin protects against cisplatin-induced nephrotoxicity without compromising cisplatin or ifosfamide anti-tumour activity. *Br J Cancer* 1996; 74(12): 2036-2041
- Nissim I, Weinberg JM. Glycine attenuates Fanconi syndrome induced by maleate or ifosfamide in rats. *Kidney Int* 1996; 49(3): 684-695
- Foxall PJ, Lenz EM, Lindon JC et al. Nuclear magnetic resonance and high-performance liquid chromatography-nuclear magnetic resonance studies on the toxicity and metabolism of ifosfamide. *Ther Drug Monit* 1996; 18(4): 498-505
- Возіанов ОФ, Гоженко АІ, Федорук ОС. *Гостра ниркова недостатність*. Одеський медичний університет, Одесса, 2003; 375
- Меркулова ЮВ, Гомон ОН, Чайка ЛА. Глутаргін – нові принципи фармакотерапії захворювань печінки: Зб. наук. праць наук.-практ. конф. Харків, 2003: 7-9
- Берхин ЕБ, Иванов ЮИ. *Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена*. Алтайское кн. Изд., Барнаул, 1972; 199
- Рябов СИ, Наточин ЮВ, Бондаренко ББ. *Диагностика болезней почек*. Медицина, Л., 1979; 256
- Михеева АИ, Богодарова ИА. К методике определения общего белка в моче на ФЭК-Н-56. *Лаб дело* 1969; (7): 441-442
- Stuben J, Port R, Bertram B et al. Pharmacokinetics and whole-body distribution of the new chemotherapeutic agent beta-D-glucosylisophosphoramide mustard and its effects on the incorporation of [methyl-3H]-thymidine in various tissues of the rat. *Cancer Chemother Pharmacol* 1996; 38(4): 355-365
- Гоженко АІ. *Енергетичне забезпечення основних почечних функцій і процесів в нормі і при пошкодженні почек*. Дис... д-ра мед. наук. Черновці, 1987; 368
- Пішак ВП, Гоженко АІ, Роговий ЮЄ. *Тубуло-інтерстиціальний синдром*.: Медакадемія, Чернівці, 2002; 221
- Lopau K, Kleinert D, Erler J et al. Tacrolimus in acute renal failure: does L-arginine-infusion prevent changes in renal hemodynamics? *Transpl Int* 2000; 13 (6): 436-442
- Higashi Y, Oshima T, Ono N et al. Intravenous administration of L-arginine inhibits angiotensin-converting enzyme in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80(7): 2198-2202

Поступила в редакцию 07.01.2007 г.

Принята в печать 22.06.2007 г.

© С.Х.Аль-Шукри, Н.И.Чалисова, А.Н.Закуцкий, С.Ю.Боровец, А.И.Анискина, 2007
УДК 616.688:612.398.192]-092.4

*С.Х. Аль-Шукри, Н.И. Чалисова, А.Н. Закуцкий, С.Ю. Боровец,
А.И. Анискина*

ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТ И ИХ МЕТАБОЛИТОВ НА РАЗВИТИЕ ОРГАНОТИПИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ ТКАНИ СЕМЕННИКОВ У КРЫС

S.Kh. Al-Shukri, N.I. Chalisova, A.N. Zakutsky, S.Yu. Borovets, A.I. Aniskina

EFFECTS OF AMINO ACIDS AND THEIR METABOLITES ON THE DEVELOPMENT OF ORGANOTYPICAL TISSUE CULTURE OF TESTES IN RATS

Кафедра урологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Институт физиологии имени академика И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербургский Институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Изучить влияние сверхмалых доз (10^{-10} – 10^{-14} моль/л) 20 кодируемых аминокислот и их метаболитов на развитие органотипической культуры семенников крысы. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Семенники трехмесячных крыс линии Вистар разделяли на эксплантаты (фрагменты величиной 1 мм³). Эксплантаты помещали в чашку Петри на коллаген и культивировали в CO₂-инкубаторе в питательной среде. Через трое суток вокруг эксплантата формируется зона роста, состоящая из клеток Лейдига, клеток Сертолли и сперматозоидов. Для количественной оценки определяли индекс площади – отношение общей площади эксплантата к площади центральной зоны. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Из 20 кодируемых аминокислот достоверное влияние на индекс площади более чем в одной концентрации было отмечено у шести L-аминокислот: изолейцина (31±6%), лизина (25±4%), аргинина (26±5%). Ни один из структурных аналогов изолейцина (лейцин, норлейцин, валин) не оказался аналогично эффективным. Из всех метаболитов L-аргинина стимулируют рост семенников: L-орнитин (26±4%), мочевины (31±4%), креатин (20±3%) и L-цитруллин (22±3%), угнетает – оксид азота (нитроглицерин, –100%). Глутатион устраняет антипролиферативные эффекты оксида азота (25±7% vs –13±3% в концентрации 10^{-13} моль/л), за счёт чего увеличивает эффективность L-аргинина. При формировании смеси из наиболее активных аминокислот концентрация аргинина должна быть в 10 раз больше концентрации L-орнитина и креатина, но в 10 раз меньше концентрации L-лизина, L-изолейцина и L-цитруллина. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Наиболее перспективными аминокислотами при использовании в клинической практике лечения мужского бесплодия являются L-изолейцин, L-аргинин и L-лизин. Впервые доказано, что максимальная активность в отношении роста семенников принадлежит L-изолейцину. Оксид азота – единственный метаболит L-аргинина с антипролиферативным эффектом. Комбинация L-аргинина с глутатионом устраняет токсичный эффект оксида азота. Определено долевое соотношение аминокислот, необходимое для максимальной стимуляции семенников.

Ключевые слова: органотипическая культура семенников, аминокислоты, сверхмалые дозы, L-изолейцин, L-аргинин, L-лизин.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to study effects of extra low doses (10^{-10} – 10^{-14} mol/l) of 20 coded amino acids and their metabolites on the development of organotypical culture of rat testes. **MATERIAL AND METHODS.** The testes of 3 months old Wistar rats were divided into explants (1 mm³ fragments). The explants were placed in a Petri dish onto collagen and cultured in a CO₂ -incubator in nutrient medium. Three days later the growth zone consisting of Leydig cells, Sertoli cells and spermatozoa was formed. For a quantitative assessment the area index was determined as the ratio of the total explant area to the central zone area. **RESULTS.** Reliable effects on the area index more than in one concentration was noted in 6 out of 20 coded amino acids: isoleucine (31±6%), lysine (25±4%), arginine (26±5%). None of the structural analogues of isoleucine (leucine, norleucine, valine) proved to be similarly effective. From all metabolites of L-arginine the testes growth is stimulated by L-ornithine (26±4%), urea (31±4%), creatine (20±3%); and L-citrulline (22±3%); and inhibited by nitric oxide (nitroglycerine – 100%). Glutathione eliminates antiproliferative effects of nitric oxide (25±7% vs 13±3% in concentration 10^{-13} mol/l) and thus increases effectiveness of L-arginine. In forming the mixture of the most active amino acids the arginine concentration must be 10 times more than the concentration of L-ornithine and creatine, but 10 times less than the concentration of L-lysine, L-isoleucine and L-citrulline. **CONCLUSION.** L-isoleucine, L- arginine and L-lysine are the most perspective amino acids for treatment of male infertility in clinical practice. It was first proved that L-isoleucine is maximally active for growth of testes. Nitric oxide is the only L-arginine metabolite with antiproliferative effect. A combination of L-arginine with glutathione eliminates the toxic effect of nitric oxide. A share correlation of amino acids necessary for maximal stimulation of the testes is established.

Key words: organotypical culture of testes, amino acids, extra low doses, L-isoleucine, L-arginine, L-lysine.

ВВЕДЕНИЕ

Аминокислоты являются строительным материалом для создания белковых молекул. Поэтому

многих исследователей интересует возможность использования аминокислот в терапии заболеваний, обусловленных недостаточным синтезом белка.

Необходимо учитывать, что аминокислоты представляют собой неоднородную группу химических соединений, которые не только входят в состав белка, но и используются многочисленными ферментами с образованием биологически активных метаболитов. Этим объясняется различие клинических эффектов разных аминокислот [1].

При секреторной форме мужского бесплодия всегда имеет место недостаточный синтез белка. Однако до сих пор не проводилось систематизированных исследований по оценке эффективности использования разных аминокислот в лечении мужского бесплодия. Из всех известных аминокислот с этой целью использовался только L-аргинин. Мета-анализ клинических исследований показал, что терапия L-аргинином в дозе 4–8 г/сутки на протяжении от 1 до 6 месяцев приводит к существенному увеличению числа прогрессивно-подвижных форм сперматозоидов у 2/3 мужчин с бесплодием секреторной этиологии [2].

Моделирование секреторного бесплодия является важной проблемой современной экспериментальной урологии. В большинстве моделей, предложенных к настоящему времени, не удавалось воспроизвести этапы развития мужского бесплодия секреторной этиологии [3, 4]. Для достижения этой задачи мы использовали метод органотипического культивирования ткани семенников крыс. Данная модель имеет целый ряд преимуществ. Во-первых, этот метод позволяет исследовать местное воздействием биологически активных веществ, то есть исключаются системные эффекты нервной и эндокринной систем. Во-вторых, в органотипической культуре сохраняются нормальные тканевые взаимодействия между отдельными клетками (в отличие от диссоциированной культуры клеток Лейдига или Сертолли). И наконец, экономические затраты на органотипическое культивирование тканей значительно меньше, чем в случае проведения экспериментов на интактных животных [5, 6].

Органотипическое культивирование ткани семенников впервые описано С. Chamru в 1920 году, но практически не применялось в научных исследованиях. В 2006 году две группы французских лабораторий независимо друг от друга подробно охарактеризовали данный метод. Ими было доказано, что органотипическая культура на протяжении двух недель с момента начала культивирования сохраняет основные функции интактных семенников: стероидогенез (синтез тестостерона) и гаметогенез (образование сперматозоидов) [3, 4].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Методика органотипического культивирования семенников характеризуется высокой воспроизво-

димостью результатов при точном соблюдении всех его этапов. Семенники половозрелых 3-месячных крыс линии Вистар разделяли на мелкие фрагменты величиной около 1 мм^3 – эксплантаты. Последние помещали в чашку Петри с коллагеновым покрытием (20 эксплантатов в каждой чашке Петри) и культивировали в 3 мл питательной среды. Использовали среду с pH 7,2 следующего состава из расчета на 100 мл: раствор Хенкса – 41 мл, среда Игла – 30 мл, фетальная сыворотка теленка – 25 мл, глюкоза 40% – 1 мл, инсулин – 2,5 мл (100 ЕД) и гентамицин – 0,5 мл (20 мг). В опытной группе в чашки Петри дополнительно добавляли 15 мкл раствора тестируемых веществ фирмы «Sigma» в различной концентрации (от 10^{-10} моль/л до 10^{-14} моль/л). В контрольной группе добавляли 15 мкл питательной среды. Для строгого соблюдения температурного режима и состава газовой среды эксплантаты культивировались в CO_2 -инкубаторе в среде с 5% содержанием CO_2 при температуре $36,7^\circ\text{C}$ в течение трех суток [5, 6].

В эксплантатах после трех суток культивирования при световой микроскопии отчетливо определялись две зоны: центральная (более плотная) и периферическая. Центральная зона была представлена клетками, исходно размещенными на коллагеновой подстилке. Периферическая зона (или зона роста) образована клетками, которые мигрировали из исходной ткани и пролиферировали на коллагеновой подложке. По данным литературы, периферическая зона эксплантата состоит из клеток Лейдига, клеток Сертолли и сперматозоидов на различных этапах созревания [3, 4]. Для количественной оценки роста эксплантатов определялся индекс площади (ИП), который рассчитывался в условных единицах как отношение площади всего эксплантата к площади его центральной зоны. Для визуализации эксплантатов применяли микротелескоп для микроскопа (МТН-13 «Альфа-Телеком», Россия). При тестировании каждого вещества использовали 10 крыс, получая по 20 эксплантатов из семенников каждого животного. ИП выражался в процентах относительно контроля. Достоверность различий ИП оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

Аминокислоты и их метаболиты тестировали в сверхмалых дозах (ультрамалых концентрациях). Под термином «сверхмалая доза» подразумевают такую дозу вещества, которая создает концентрацию на несколько порядков ниже равновесной константы взаимодействия вещества со своим эффектором. По данным разных авторов, сверхмалая доза составляет меньше 10^{-10} – 10^{-12} моль/л [7]. Эффективность сверхмалых доз биологичес-

Таблица 1

Аминокислоты, достоверно влияющие на индекс площади органотипической культуры семенников через 3 суток культивирования

Компоненты	10 ⁻¹⁰ моль/л	10 ⁻¹¹ моль/л	10 ⁻¹² моль/л	10 ⁻¹³ моль/л	10 ⁻¹⁴ моль/л
L-изолейцин	22±7%*	26±4%*	31±6%*	19±3%*	25±7%*
L-лизин	25±5%*	-4±3%	25±4%*	19±6%*	13±7%
L-аргинин	8±2%	19±2%*	26±5%*	12±4%	-5±3%
L-лейцин	4±7%	8±3%	21±3%*	9±6%	3±2%
L-пролин	7±4%	-2±5%	16±4%*	6±2%	8±3%
L-гистидин	0±4%	2±6%	-15±4%*	-4±6%	3±1%

* – значения достоверны при $p < 0,05$.

Таблица 2

Влияние на развитие органотипической культуры семенников структурных аналогов L-изолейцина

Компоненты	10 ⁻¹⁰ моль/л	10 ⁻¹¹ моль/л	10 ⁻¹² моль/л	10 ⁻¹³ моль/л	10 ⁻¹⁴ моль/л
L-изолейцин	22±7%*	26±4%*	31±6%*	19±3%*	25±7%*
L-лейцин	4±7%	8±3%	21±3%*	9±6%	3±2%
L-норлейцин	4±6%	9±3	25±3%*	10±1	-4±5
L-валин	-5±4	-11±3	13±3%**	-2±3	-8±4

* – значения индекса площади достоверны при $p < 0,05$, ** – значения индекса площади достоверны при $p < 0,1$.

ки активных веществ продемонстрирована в опытах на разных биологических моделях (изолированные ферменты, клетки животного растительного происхождения, ткани, лабораторные животные), а также в клинических исследованиях. Многочисленными экспериментами доказана двухфазность эффекта биологически активного вещества. Последнее активно в диапазоне обычных концентраций, затем по мере уменьшения концентрации эффект пропадает и появляется вновь лишь в диапазоне сверхмалых доз. Диапазон концентраций между двумя пиками активности получил название «мертвой зоны» [7]. «Знак эффекта» чаще всего остается прежним, но в некоторых случаях меняется на прямо противоположный. Например, известный антикоагулянт аспирин в ультрамалых концентрациях (10⁻³⁰ мг/кг) обладает мощным протромботическим эффектом [8]. Важная особенность сверхмалых доз заключается в том, что их эффект развивается на фоне наличия того же вещества в многократно превышающих концентрациях. Например, при одновременном введении крысам двух доз аспирина: классической и сверхмалой – свертывание крови увеличилось, то есть эффект сверхмалой дозы оказался сильнее [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В первой серии опытов мы исследовали влияние всех 20 кодируемых аминокислот в концентрации от 10⁻¹⁰ до 10⁻¹⁴ моль/л. Оказалось, что достоверно влияют на развитие органотипической культуры семенников только шесть L-аминокислот: изолейцин, аргинин, лизин, лейцин, пролин, гистидин. Остальные 14 L-аминокислот (глицин, аланин, валин, аспарагин, аспартат, глутамин, глутамат, цистеин, серин, метионин, фенилаланин, триптофан, треонин, тирозин) не оказали достоверного влияния на развитие органотипической культуры семенников. Выяснилось, что концентрационная ширина пика активности у разных аминокислот имеет существенные отличия. L-изолейцин, L-аргинин и L-лизин характеризуются широким пиком активности, в то время как L-лейцин, L-пролин и L-гистидин были эффективны только в концентрации 10⁻¹² моль/л. Причем, L-гистидин оказалась единственной аминокислотой, которая угнетает развитие органотипической культуры ткани семенников (табл. 1).

Во второй серии опытов мы исследовали структурные аналоги L-изолейцина: L-лейцин, L-норлейцин, L-валин. Все они относятся к группе аминокислот с алифатическим радикалом и отличаются от L-изолейцина только числом аминокислотных групп или их расположением. Результаты наших исследований показали, что L-изолейцин является уникальной аминокислотой, так как все три ее структурных аналога эффективны только при одной концентрации. Необходимо также отметить, что пик активности всех четырех аминокислот приходится на 10⁻¹² моль/л (табл. 2).

В третьей серии опытов были изучены эффекты метаболитов L-аргинина. В отличие от большинства других аминокислот, L-аргинин метаболизируется большим числом ферментов. Причем до сих пор не выяснено, действием какого метаболита этой аминокислоты обусловлен наибольший клинический эффект. В научной литературе все положительные эффекты L-аргинина связывают только с одним его метаболитом – оксидом азота (NO). Тем не менее, доноры NO (например, нитраты) не могут воспроизвести большинство биологических эффектов L-аргинина. Поэтому нами были подробно исследованы метаболиты L-аргинина, локально синтезирующиеся в семенниках [3]. NO, как высоко реакционноспособное соединение, не мог быть использован в органотипической культуре, поэтому в качестве независимого от L-аргинина донора NO нами был исследован эффект нитроглицерина (табл. 3).

Известно, что фермент аргиназа гидролизует L-аргинин до L-орнитина и мочевины. По нашим

Влияние метаболитов L-аргинина на индекс площади органотипической культуры семенников через трое суток культивирования. Ферменты биосинтеза креатина: аргинин-глицин-амидинотрансфераза, гуанидиноацетат-N-метилтрансфераза

Фермент	Метаболит L-аргинина	10 ⁻¹⁰ моль/л	10 ⁻¹¹ моль/л	10 ⁻¹² моль/л	10 ⁻¹³ моль/л	10 ⁻¹⁴ моль/л
аргиназа	орнитин	4±3%	6±2%	3±4%	-15±2%*	26±4%*
	мочевина	10±5%	14±4%**	20±3%*	31±4%*	9±3%
синтазаоксида азота	цитруллин	12±5%	22±3%*	-4±3%	3±4%	6±2%
	оксид азота(нитроглицерин)	-100%*	-100%*	-29±7%*	-13±3%**	4±4%
два фермента	креатин	9±2%	6±4%	4±2%	20±3%*	0±2%

данным, орнитин обладает характерным двойным пиком активности: в концентрации 10⁻¹³ моль/л он незначительно угнетает рост эксплантатов семенников (-15±2%), а в концентрации 10⁻¹⁴ моль/л существенно стимулирует их рост (26±4%). Выяснилось также, что мочевина достоверно стимулирует развитие органотипической культуры семенников в трех концентрациях (10⁻¹¹, 10⁻¹², 10⁻¹³). Это создает предпосылки для ее использования в качестве самостоятельного препарата.

Фермент NO синтаза окисляет L-аргинин до L-цитруллина и NO. По результатам наших исследований, L-цитруллин стимулирует пролиферацию клеток органотипической культуры семенников в концентрации 10⁻¹¹ моль/л (22±3%). В качестве независимого от аргинина донора NO мы использовали нитроглицерин. Выяснилось, что нитроглицерин значительно угнетает развитие семенников в четырех концентрациях: от 10⁻¹⁰ до 10⁻¹⁴ моль/л (до -100% в концентрации 10⁻¹⁰-10⁻¹¹ моль/л).

L-аргинин превращается в креатин с помощью двух ферментов (аргинин-глицин-амидинотрансфераза и гуанидиноацетат-N-метилтрансфераза). Мы выяснили, что креатин увеличивает индекс площади органотипической культуры семенников в одном диапазоне концентраций (20±3% в концентрации 10⁻¹³ моль/л), причем пик его активности на порядок отстает от аргинина.

Таким образом, из всех метаболитов аргинина антипролиферативным эффектом обладает только NO, поэтому в четвертой серии опытов нами были изучены научно-обоснованные пути устранения вредных эффектов данного метаболита. Известно, что эффект NO реализуется либо через нитрозирование тиоловых групп, либо через активацию растворимой гуанилатциклазы. Активация растворимой гуанилатциклазы приводит к увеличению уровня цГМФ, изменению уровня кальция и функционирования ряда Ca²⁺-зависимых белков. В дальнейшем цГМФ расщепляется фосфодиэстеразами [9, 10].

Для изучения нитрозотийного пути реализа-

ции эффектов NO нами был использован тиол-содержащий трипептид – глутатион. При совместном применении субпороговых концентраций глутатиона и нитроглицерина (10⁻¹³ моль/л) получен стимулирующий эффект (25±7%), превышающий таковой у изолированного глутатиона (16±5%). Аналогичные результаты были получены и при использовании смеси из субпороговых концентраций глутатиона и L-аргинина (рис. 1). Таким образом, глутатион эффективно устраняет антипролиферативные эффекты NO и за счет этого увеличивает эффективность L-аргинина.

Для изучения метаболического пути NO, связанного с активацией растворимой гуанилатциклазы нами был использован силденафил (Виагра®) – селективный ингибитор фосфодиэстеразы V – фермента, который расщепляет цГМФ и прерывает эффекты растворимой гуанилатциклазы. Мы исследовали две концентрации виагры: 2 нг (средняя сывороточная концентрация при приеме 50 мг виагры) и 20 нг (средняя тканевая концентрация при приеме 50 мг виагры) [11]. Выяснилось, что вне зависимости от концентрации, виагра умеренно стимулирует рост эксплантатов семенников: 18±4%

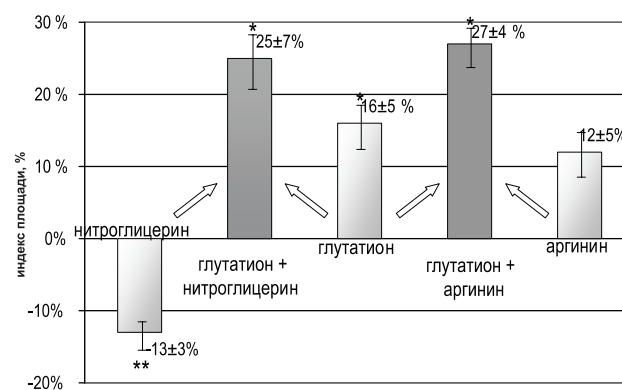


Рис. 1. Влияние глутатиона на эффекты нитроглицерина и L-аргинина. Столбики светло-серого цвета отражают индекс площади при изолированном применении субпороговых концентраций нитроглицерина, глутатиона или L-аргинина. Столбики тёмно-серого цвета демонстрируют индекс площади, полученный при совместном инкубировании глутатиона с нитроглицерином и глутатиона с L-аргином.

Индекс площади при использовании смеси, состоящей из разных концентраций виагры и L-аргинина

Доза салденафила	L-аргинин				
	10 ⁻¹¹ моль/л (8±2%)	10 ⁻¹¹ моль/л (19±2%)	10 ⁻¹² моль/л (26±5%)	10 ⁻¹³ моль/л (12±4%)	10 ⁻¹⁴ моль/л (-5±3%)
виагра 2 нг (18±4%)	21±4%	25±3%	17±5%	21±3%	21±4%
виагра 20 нг (19±6%)	15±3%	10±4%	17±3%	15±6%	23±3%

(для 2 нг) или 19±6% (для 20 нг). Тем не менее, использование смеси L-аргинина с виагрой не оказывало более выраженного влияния на пролиферацию клеток органотипической культуры ткани семенников (табл. 4).

В пятой серии опытов были исследованы эффекты смеси из наиболее активных аминокислот и их метаболитов. При использовании одинаковых эффективных концентраций L-аргинина и L-лизина индекс площади не отличался от контроля. При этом, если концентрация L-лизина была на порядок больше концентрации L-аргинина, то отмечалось существенное увеличение зоны роста. И наоборот, при концентрации L-аргинина в 10 раз большей концентрации L-лизина мы наблюдали угнетение роста эксплантатов органотипической культуры семенников (табл. 5). Аналогичные опыты были проведены и с другими смесями аминокислот. Выяснилось, что для максимальной стимуляции семенников концентрация L-аргинина должна быть в 10 раз больше концентрации L-орнитина и креатина, но в 10 раз меньше, чем концентрация L-изолейцина, L-лизина и L-цитруллин. Единственным метаболитом, который

Влияние на развитие органотипической культуры семенников смеси, состоящей из разных концентраций L-аргинина и L-лизина

Долевое соотношение аминокислот в смеси	Концентрация аминокислот, моль/л		Индекс площади, %
	L-аргинин	L-лизин	
Одинаковая концентрация	10 ⁻¹²	10 ⁻¹²	1±3%
	10 ⁻¹³	10 ⁻¹³	5±4%
Концентрация L-лизина в 10 раз больше	10 ⁻¹²	10 ⁻¹¹	27±4%*
	10 ⁻¹³	10 ⁻¹²	36±3%*
Концентрация L-аргинина в 10 раз больше	10 ⁻¹¹	10 ⁻¹²	-12±4%
	10 ⁻¹²	10 ⁻¹³	-32±6%*

Влияние на развитие органотипической культуры семенников смеси, состоящей из разных концентраций L-аргинина и мочевины

Долевое соотношение в смеси	Концентрация, моль/л		Индекс площади, %
	L-аргинин	мочевина	
Одинаковая концентрация	10 ⁻¹²	10 ⁻¹²	26±5%*
	10 ⁻¹³	10 ⁻¹³	32±7%*
Концентрация L-аргинина в 10 раз больше	10 ⁻¹²	10 ⁻¹³	18±3%*
Концентрация L-аргинина в 10 раз больше	10 ⁻¹³	10 ⁻¹²	16±4%*

«выбивается» из описанной закономерности оказалась мочевины, которая стимулирует пролиферацию клеток в органотипической культуре семенников вне зависимости от долевого соотношения с L-аргинином (табл. 6).

Нерешенным остается вопрос практического применения L-аргинина в связи с отсутствием его адекватной лекарственной формы. В настоящее время L-аргинин выпускается в форме биологически активных добавок, содержащих чистый L-аргинин. Длительный прием подобных биодобавок приводит к развитию щелочного гастрита, так как рН чистого раствора L-аргинина равен 13. Другой лекарственной формой L-аргинина является «Гепасол» – фармакологический препарат, предназначенный для лечения печеночной энцефалопатии. «Гепасол» достоверно стимулирует развитие органотипической культуры семенников в трех из пяти исследованных нами концентраций: 18±4% × (10⁻¹⁰ моль/л), 28±7% × (10⁻¹¹ моль/л), 32±4% × (10⁻¹² моль/л), 15±6% (10⁻¹³ моль/л), 10±6% (10⁻¹⁴ моль/л).

ОБСУЖДЕНИЕ

Лечение секреторной формы мужского бесплодия представляет собой актуальную проблему современной урологии. Общим признаком данной неоднородной группы заболеваний является снижение интенсивности белкового синтеза. В нашем исследовании мы изучили эффекты 20 кодируемых аминокислот на развитие органотипической культуры ткани семенников. Установлено, что на ее развитие достоверно влияют только шесть аминокислот (L-изолейцин, L-аргинин, L-лизин, L-лейцин, L-пролин и L-гистидин). В результате экспериментов выяснилось, что ширина пика активности у разных аминокислот имеет существенные отличия. L-лейцин, L-пролин и L-гистидин оказались эффективны только в концентрации 10⁻¹² моль/л, тогда как L-изолейцин, L-аргинин и L-лизин характеризуются широким пиком активности. Результаты наших экспериментов по

применению органотипической культуры позволяют предположить, что клинической эффективностью обладают только те вещества, у которых активность проявляется как минимум в двух концентрациях. Причем, чем более широкий спектр этой активности, тем больше вероятность достижения значимого клинического эффекта [5]. Таким образом, в клинической практике наиболее перспективными аминокислотами для лечения мужского бесплодия являются L-изолейцин, L-аргинин и L-лизин.

Максимально эффективным стимулятором роста эксплантатов семенников оказался L-изолейцин, поэтому во второй серии опытов были исследованы структурные аналоги L-изолейцина: L-лейцин, L-норлейцин и L-валин. По данным наших исследований, L-изолейцин является уникальной аминокислотой, так как все три структурных аналога были эффективны только при одной концентрации. Любопытно, что пик активности всех четырех аминокислот приходится на концентрацию 10^{-12} моль/л. Причем данная закономерность отмечена и в экспериментах на других органах и тканях. В доступной нам научной литературе отсутствуют сведения о роли L-изолейцина в отношении функционирования семенников. На модели изолированно перфузируемых яичек крыс доказано, что основной аминокислотой, захватываемой семенниками, является L-лейцин [12]. Транспорт L-изолейцина в этом исследовании не изучался, но так как эти две аминокислоты имеют сходную структуру, можно предположить, что L-изолейцин также эффективно захватывается семенниками.

Известно, что L-аргинин, в отличие от других аминокислот, метаболизируется многочисленными ферментами, и до сих пор не ясно, с каким конкретно метаболитом аминокислоты связан ее существенный клинический эффект в терапии мужского бесплодия секреторной этиологии. По данным литературы, в ткани семенников из L-аргинина образуется 5 основных метаболитов: L-орнитин, мочевина, L-цитруллин, NO и креатин [2]. Доказано, что все перечисленные метаболиты, за исключением NO, стимулируют развитие органотипической культуры ткани семенников. L-орнитин является предшественником полиаминов – хорошо известных стимуляторов пролиферации и дифференцировки клеток. Кроме того, L-орнитин представляет собой основной низкомолекулярный метаболит L-аргинина в организме человека [13]. Мочевина стимулирует развитие семенников в трех концентрациях (10^{-11} , 10^{-12} и 10^{-13} моль/л), что создает предпосылки для ее использования в качестве самостоятельного препарата. Основной механизм действия мочевины связан с защитой белков от

протеолитического разрушения [14]. Другой метаболит L-аргинина – L-цитруллин – также стимулирует развитие органотипической культуры семенников. На сегодняшний день известен только один метаболический путь L-цитруллина – превращение в L-аргинин [15]. Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о возможности и целесообразности применения L-цитруллина в клинической практике в качестве «аргинин-сохраняющего» препарата.

По нашим данным, единственным метаболитом L-аргинина с выраженным антипролиферативным эффектом является NO. Таким образом, устранение цитостатического действия NO является задачей, решение которой позволит значительно повысить клиническую эффективность L-аргинина как стимулятора семенников.

Известно, что для реализации физиологического эффекта NO необходимы органические вещества с тиоловыми группами. Действительно, при совместном использовании тиол-содержащего вещества глутатиона с нитроглицерином получен стимулирующий эффект, превышающий эффект при изолированном применении глутатиона. Аналогичные результаты получены при использовании смеси из L-аргинина и глутатиона. Таким образом, глутатион эффективно устраняет антипролиферативные эффекты NO, за счет чего существенно увеличивает эффективность L-аргинина.

По данным литературы, NO в небольших концентрациях стимулирует пролиферацию клеток [16]. Виагра (силденафил) блокирует фосфодиэстеразу – фермент, нейтрализующий цГМФ, который образуется под действием растворимой гуанилатциклазы, активированной NO [11]. Таким образом, виагра потенцирует полезные эффекты NO. По результатам нашего исследования, виагра умеренно стимулирует рост эксплантатов семенников, однако комбинация L-аргинина с виагрой не приводит к существенному усилению стимулирующего эффекта. Таким образом, маловероятно, чтобы положительный эффект L-аргинина был связан с образованием небольших количеств NO.

Логично было бы предположить, что стимулирующий эффект смеси из наиболее активных аминокислот или метаболитов окажется более выраженным. Полученные нами результаты показали, что для максимальной стимуляции семенников в смеси биологически активных веществ должно соблюдаться их определенное долевое соотношение. Так, концентрация L-аргинина должна быть в 10 раз больше концентрации L-орнитина или креатина, но в 10 раз меньше концентрации L-цитруллина, L-изолейцина и L-лизина.

В завершающей серии опытов были исследованы эффекты «Гепасола» – фармакологического препарата, содержащего большие дозы L-аргинина с примесью важнейших витаминов. Проведенные нами эксперименты показали, что эффективность «Гепасола» на только не уступает, но и превосходит эффективность L-аргинина. Если L-аргинин увеличивает индекс площади в двух из пяти тестированных концентраций, то «Гепасол» обладает аналогичным эффектом в трех концентрациях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволило сделать ряд выводов:

1. В терапии секреторных форм мужского бесплодия наиболее перспективными аминокислотами являются L-изолейцин, L-аргинин и L-лизин. Максимальная активность в отношении стимуляции роста эксплантатов семенников принадлежит L-изолейцину.

2. Эффективность L-изолейцина значительно больше, чем его структурных аналогов.

3. Из всех метаболитов L-аргинина: L-орнитин, мочевины, L-цитруллин и креатин стимулируют рост органотипической культуры ткани семенников крысы. NO – единственный метаболит L-аргинина, оказывающий обратный эффект.

4. Глутатион увеличивает эффективность L-аргинина в отношении стимуляции семенников за счет устранения антипролиферативных эффектов NO. Комбинированное использование L-аргинина с виагрой не приводит к усилению стимулирующего эффекта.

5. «Гепасол» может успешно применяться для стимуляции семенников вместо L-аргинина.

6. Максимальная стимуляция семенников достигается при добавлении L-цитруллина в раствор L-аргинина.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Западнюк ВИ, Купраж ЛП, Заика МУ, Безверхая ИС. *Аминокислоты в медицине*. «Здоров'я», Киев, 1982: 12-14

2. Боровец СЮ, Закуцкий АН, Субботина ТФ. Биохимические и клинические аспекты влияния L-аргинина на функциональную активность мужской половой системы. *Учёные записки* 2005; XII (3): 12-17

3. Roulet V, Denis H, Staub C. Human testis in organotypic culture: application for basic or clinical research. *Hum Reprod* 2006; 21 (6): 1564-1571

4. Lambrota R, Liveraa G, Coffignya H. A new method for toxicity assays on human and mouse fetal testis. *Biochimie* 2006; 88 (11): 1831-1839

5. Чалисова НИ, Князькин ИВ, Кветной ИМ. *Нейроэндокринные механизмы действия пептидов и аминокислот в тканевых культурах*. ДЕАН, СПб., 2005: 26-30

6. Чалисова НИ, Пенниайнен ВА, Харитоновна НВ, Ноздрачев АД. Динамика стимулирующих и ингибирующих эффектов в органотипической культуре нервной и лимфоидной ткани. *Доклады Академии наук* 2001; 380 (3): 418-421

7. Шевченко ИН. Международный симпозиум «Механизмы действия сверхмалых доз». *Радиационная биология. Радиоэкология* 2003; 43 (3): 261-384

8. Belougne-Malfatti E, Ageujouf O, Doutremepuich F et al. Combination of two doses of acetyl salicylic acid: experimental study of arterial thrombosis. *Thromb Res* 1998; 90 (5): 215-221

9. Lucas KA, Pitari GM, Kazerounian S et al. Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. *Pharmacol Rev* 2000; 52 (3): 375-414

10. Gaston BM, Carver J, Doctor A, Palmer LA. S-Nitrosylation signaling in cell biology. *Mol Intervent* 2003; (3): 253-263

11. Salonia A, Rigatti P, Montorsi F. Sildenafil in erectile dysfunction: a critical review. *Curr Med Res Opin* 2003; 19 (3): 241-262

12. Bustamante JC, Setchell BP. The uptake of amino acids, in particular leucine, by isolated perfused testes of rats. *J Androl* 2000; 21 (3): 452-463

13. Castillo L, Beaumier L, Ajami AM, Young VR. Whole body nitric oxide synthesis in healthy men determined from [15N]arginine-to-[15N]citrulline labeling. *Proc Natl Acad Sci* 1996; (93): 11460-11465

14. Белик ЯВ, Гриненко АГ, Смерчинская ЛС. Определение протеолитической активности тканей с использованием протамина в качестве субстрата. *Укр Биохим Журнал* 1968; 40 (4): 532-536

15. Solomonson LP, Flam BR, Pendleton LC et al. The caveolar nitric oxide synthase/arginine regeneration system for NO production in endothelial cells. *J Exp Biol* 2003; (206): 2083-2087

16. Брюне Б, Сандау К, фонКнетен А. Апоптотическая гибель клеток и оксид азота: механизмы активации и антагонистические пути. *Биохимия* 1998; (63): 966-975

Поступила в редакцию 11.04.2007 г.

Принята в печать 22.06.2007 г.

© И.Г.Каюков, А.В.Смирнов, В.А.Добронравов, 2007
УДК 616.61-02:616-073.75

И.Г. Каюков, А.В. Смирнов, В.А. Добронравов

РЕНТГЕНОКОНТРАСТНАЯ НЕФРОПАТИЯ

I.G. Kayukov, A.V. Smirnov, V.A. Dobronravov

RADIOCONTRAST NEPHROPATHY

Кафедра нефрологии и диализа, кафедра пропедевтики внутренних болезней, Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия

Ключевые слова: рентгеновские контрасты, почки, острая почечная недостаточность.

Key words: radiocontrasts, kidneys, acute renal failure.

Под рентгеноконтрастной (РКН) или контрастированной нефропатией (КИН) понимается нарастание концентрации креатинина в сыворотке крови (Scr) более чем на 25% от исходного уровня или более чем на 0,5 мг/дл (44,2 мкмоль/л) в течение 48 часов после выполнения рентгеноконтрастного исследования при отсутствии других причин, которые могут привести к повышению Scr. При этом у 80% пациентов с РКН нарастание уровня креатинина происходит в первые сутки после введения контраста [1–3].

Некоторые авторы, определяя понятие РКН, пролонгируют срок регистрации нарастания концентрации сывороточного креатинина до трех суток после введения рентгеновского контраста.

Тем не менее, в ряде случаев РКН может приводить к крайне тяжелым последствиям (см. ниже). В связи с различиями в отношении прогноза, на наш взгляд, все случаи РКН целесообразно подразделять на проявляющиеся:

- неолитоурической (только транзиторное повышение концентрации креатинина в сыворотке крови и/или преходящее снижение СКФ) острой почечной недостаточностью (ОПН);

- олигоурической ОПН, не потребовавшей заместительной почечной терапии;

- олигоурической ОПН, потребовавшей заместительной почечной терапии.

Механизмы нефротоксического влияния йодсодержащих рентгеноконтрастных средств (РКС) известны далеко не полностью [1–4].

Предполагают, что в негативном воздействии рентгеновских контрастов на почки имеет значение ряд факторов: прямое токсическое действие рентгеновских контрастов на клетки почечных канальцев, изменения почечной гемодинамики при

введении РКС и исходное состояние объемного статуса организма (гиповолемия).

Прямое токсическое действие рентгеновских контрастов, возможно, отчасти связано с высокой осмолярностью большинства рентгеноконтрастных препаратов. При этом надо учитывать, что современные контрасты свободно фильтруются в гломерулярных капиллярах, но почти не секретизируются и не реабсорбируются в почечных канальцах (хотя небольшой объем трансбульбарного транспорта, по-видимому, у некоторых РКС есть). Поэтому концентрация рентгеновского контраста в моче может в 50–100 раз превышать его концентрацию в плазме крови. Все это, помноженное на высокую осмолярность некоторых контрастов, создает мощный эффект осмотической токсичности (отток интрацеллюлярной жидкости во внешнюю среду с повреждением структур цитоскелета и мембран или, попросту говоря, необратимое сморщивание клеток). Клетки почек лучше адаптируются к изменениям тоничности внеклеточной жидкости, чем клетки других органов или тканей. Но это, прежде всего, относится к клеткам внутреннего мозгового вещества. Поэтому в условиях осмотической перегрузки вероятность повреждений клеток других отделов почек достаточно велика.

Отмеченная выше возможность трансбульбарного транспорта некоторых РКС, например, канальцевая секреция йогексола в почках крыс, может создать дополнительные предпосылки для развития повреждений почек. В этой ситуации активный транспорт контрастного препарата увеличивает расход энергии, что может спровоцировать развитие кислородного истощения и в условиях осмотической перегрузки усугубить нежелательные ге-

динамические последствия применения РКС (см. ниже).

В экспериментальных исследованиях также показано, что на фоне введения РКС увеличивается продукция свободных радикалов кислорода и снижение активности систем антиоксидантной защиты, что, естественно сопровождается цитотоксическими эффектами. Предполагается, что данное звено патогенеза отчасти может блокироваться назначением препаратов с антиоксидантными свойствами (АЦЦ, аскорбиновая кислота – см. ниже).

Изменения почечной гемодинамики при РКН. В первое время после введения контраста (2-3 ч) наблюдается кратковременное нарастание почечного кровотока и СКФ. Причины данного явления не совсем понятны. Скорее всего, их можно связать с подавлением механизма канальце-клубочковой обратной связи на фоне резкого повышения осмолярности тубулярной жидкости, притекающей к области *macula densa*. Кратковременная фаза почечной вазодилатации сменяется продолжительным периодом ренальной вазоконстрикции, что, собственно, и определяет развитие РКН. Причины данного явления также выяснены не окончательно, но в этом периоде наблюдается повышение активности почечных вазоконстрикторов: вазопрессина, ангиотензина II, эндотелина, аденозина и др. и уменьшение вазодилатации, опосредованной простагландинами и оксидом азота. Все вместе, естественно, ведет к нарастанию констрикции почечных сосудов, которая усиливается на фоне состояний, связанных с уменьшением эффективного объема внеклеточной жидкости (застойная сердечная недостаточность и др.). Дальнейший механизм повреждения почек при РКН, скорее всего, не отличается от свойственного любому варианту острого тубулярного некроза ишемической этиологии. При этом наблюдается: усиление апоптоза клеток канальцевого эпителия, нарушение состояния молекул адгезии, сдвигивание тубулярных клеток в просвет канальца и последующее там их «склеивание». Далее возникает обструкция канальцев и утечка тубулярной жидкости через их «облысевшие» участки и, в конечном итоге, резкое снижение фильтрационной способности почек.

Кроме того, почечная вазоконстрикция на фоне введения РКС сопровождается преимущественным нарастанием тонуса эфферентной артериолы, что, естественно, снижает кровоток в перигломерулярных капиллярах и приводит к наиболее выраженной ишемии наружной медуллы. Принято считать, что структуры, расположенные именно в этой

анатомической зоне почек, подвергаются наибольшим повреждениям при РКН.

Предполагают также, что в развитии медулярной ишемии определенную роль может сыграть повышение вязкости крови на фоне введения РКС, замедляющее кровоток в постгломерулярных сосудах, имеющих очень малый диаметр.

В настоящее время в мире наблюдается непрерывный рост числа рентгеноконтрастных процедур, связанный, прежде всего, с бурным развитием сосудистой хирургии. Сами процедуры становятся все сложнее, что нередко сопровождается увеличением объема вводимых рентгеновских контрастов. Нарастает и число больных с наличием факторов риска, которым проводятся рентгеноконтрастные исследования.

На начало нынешнего столетия только в США выполнялось более одного миллиона рентгеноконтрастных процедур в год. При этом частота РКН, по некоторым данным, превышала сто пятьдесят тысяч в год. В тех же США РКН считается третьей по частоте причиной внутрибольничной ОПН. В общей популяции госпитализированных пациентов частота РКН варьирует от 1 до 6%, тогда как при наличии серьезных факторов риска (см. ниже) РКН может развиваться более, чем в 50 % случаев. По другим данным, у людей с нормальной функцией почек РКН также развивается редко (0-5%), тогда как у пациентов с сахарным диабетом (СД) и умеренным снижением почечной функции ее частота составляет 9-40%, а у больных со значительной выраженностью почечной дисфункции достигает 50-90% [5,6].

К счастью, тяжелые случаи РКН, сопровождающиеся выраженной ОПН, в том числе требующей проведения заместительной почечной терапии (ЗПТ), все же встречаются довольно редко (табл. 1). Однако в этих случаях внутрибольничная летальность очень высока (см. табл. 1).

Еще одним важным моментом считается то, что развитие РКН, даже не сопровождающееся выраженной ОПН, может ассоциироваться с ухуд-

Таблица 1

Частота РКН, требующей проведения гемодиализа

Автор	Год	Число больных	Частота диализа, %	Летальность у больных на диализе, %
McCullough	1997	3695	0,5	37,0
Gruberg	2000	12054	0,4	25,5
Levi	1996	16248	1,1	34,0
Rialp	1996	1087	5,9	71,5
Andersson	1993	2009	1,2	44,0
Chretow	1997	43642	1,1	63,7
Joachimsson	1989	5181	1,4	57,0

шением отдаленного прогноза. Например, четырехлетняя выживаемость у пациентов после коронароангиопластики, перенесших и не перенесших РКН (нарастание $Scr > 44,2$ мкмоль/л после процедуры) оказалась достоверно меньше, по сравнению с теми, у которых этого не наблюдалось. Двухлетняя выживаемость у лиц с РКН, потребовавшей проведения заместительной почечной терапии (ЗПТ), не превышает 19%.

Наконец, важным следствием нарастания частоты РКН является то, что она становится серьезной причиной роста затрат на здравоохранение. Например, даже транзиторное нарастание концентрации сывороточного креатинина, в среднем, вело к увеличению пребывания пациента в отделении интенсивной терапии на три или более дней и общего койко-дня на четверо или более суток.

С позиций современной превентивной нефрологии профилактические меры занимают основное место в предупреждении негативных последствий применения йодсодержащих рентгеновских контрастов [7–10].

Тем не менее, разделение мер по профилактике РКН на «первичные» и «вторичные» условно.

К первичной профилактике можно отнести следующее:

- Проведение рентгеноконтрастной процедуры только по строгим показаниям.
- Выявление и стратификация факторов риска РКН.
- Адекватный выбор объема и вида контрастного вещества.
- По возможности отказ от повторных и множественных рентгеноконтрастных исследований.
- Отмена нефротоксичных препаратов перед рентгеноконтрастным исследованием.
- По возможности использование альтернативных методов визуализации или альтернативных контрастов.

Учет и оценка выраженности факторов риска является краеугольным камнем при выборе мер профилактики РКН.

Факторы риска рентгеноконтрастной нефропатии:

- Наличие заболевания почек (СКФ < 60 мл/мин)
- Пожилой возраст (>70 лет)
- Сахарный диабет
- Высокая протеинурия
- Нефротический синдром
- Застойная сердечная недостаточность
- Артериальная гипертензия
- Множественная миелома
- Гиповолемия
- Дегидратация

- Цирроз печени
- Атопическая аллергия, астма
- Сепсис
- Анемия
- Заболевания периферических сосудов
- Гиперурикемия
- Гиперхолестеринемия
- Нефротоксические препараты: НПВС, диуретики, особенно фуросемид, аминогликозиды, амфотерицин В, циклоспорин, препараты платины, сульфаниламиды, ИАПФ (?)
- Вид контраста, способ введения
- Большой объем контраста
- Гипотония во время процедуры или стойкая гипотензия
- Жировая эмболия во время процедуры
- Множественные процедуры
- Осложнения при предыдущем применении
- Внутриаортальная контрпульсация

Часть критериев, приведенных выше, требует определенных комментариев.

Функциональное состояние почек. По общему мнению, первоначальное состояние функции почки является важнейшим детерминантом последующего развития РКН. Вероятность нарастания выраженности почечной дисфункции после рентгеноконтрастного исследования увеличивается практически экспоненциально в зависимости от исходного состояния функции почек. Таким образом, при сниженной функции почек риск развития РКН возрастает многократно. Данное положение подтверждают очень многие исследования, однако они же дают основания считать, что риск развития РКН у больных с нормальной функцией почек до проведения рентгеноконтрастной процедуры крайне низок (см. выше). При этом у таких пациентов практически никогда не развивается тяжелой ОПН, требующей ЗПТ.

При оценке функционального состояния почек в плане прогноза развития РКН в большинстве случаев критическим уровнем нормальной функции органа считается концентрация креатинина в сыворотке крови более 1,5 мг/дл (132,8 мкмоль/л) или значение расчетной СКФ менее 60 мл/мин. Эти критерии не вполне согласуются с действующими в современной нефрологии оценками тяжести почечной дисфункции. Однако их придерживается большинство исследователей данной проблемы. С другой стороны, Европейское общество урогенитальной радиологии (ESUR) рекомендует несколько иные показатели: Scr – более 120 мкмоль/л, СКФ – менее 50 мл/мин/1,73 м² площади поверхности тела.

Сахарный диабет. Проведенные исследова-

ния привели к противоречивым результатам в отношении того, является ли это заболевание само по себе независимым фактором риска развития РКН.

В основном принято считать, что наличие СД без нарушения функции почек (см. критерии, приведенные выше) не считается значимым фактором риска развития РКН. В то же время нет сомнений в том, что диагноз СД при наличии диабетической нефропатии со снижением СКФ значительно увеличивает риск дальнейшего ухудшения функции почек после введения рентгеноконтрастных препаратов. По-видимому, пациентов с СД все же следует относить к группе высокого риска, поскольку есть данные о том, что у них уровень летальности при развитии РКН выше, чем у больных без СД.

Множественная миелома. Полагают, что при множественной миеломе на фоне введения рентгеновских контрастов развивается блокада канальцев вследствие преципитации препаратов с белком Тамма-Хорфалла, другими аномальными протеинами и слущенными канальцевыми клетками. При этом слущивание может происходить вследствие ишемии и прямого токсического действия РКС, в том числе за счет их влияния на молекулы адгезии. Тем не менее, при отсутствии дегидратации и других факторов риска РКН при множественной миеломе встречается не столь уж часто (0,6-1,25% случаев). В то же время риск резко возрастает при наличии у больных гиперурикемии, гиперкальцие-

мии, амилоидоза, уменьшения эффективного объема внеклеточной жидкости, болезни отложения легких цепей иммуноглобулинов, часто встречающихся у пациентов с множественной миеломой. Эти обстоятельства обязательно должны учитываться при выборе тактики обследования таких больных.

Стратификация факторов риска РКН. У всех больных, которым предполагается проведение рентгеноконтрастной процедуры, должна быть оценена степень риска развития РКН.

В настоящее время для этих целей могут быть использованы несколько подходов. Согласно рекомендациям ESUR, вероятность появления РКН считается высокой при наличии у пациента снижения функции почек (см. выше), сахарного диабета или сочетания любых трех или более обстоятельств, приведенных ниже:

- Возраст более 70 лет
- Сахарный диабет
- Повторные рентгеноконтрастные процедуры
- Застойная сердечная недостаточность
- Цирроз печени
- Нефротический синдром
- Заболевания периферических сосудов
- Диуретики (особенно фуросемид)
- НСПВС, циклоспорин, аминогликозиды, амфотерицин и др.
- Артериальная гипертензия
- Гиперурикемия и гиперхолестеринемия
- Множественная миелома.

Таблица 3

Стратификация риска развития острого снижения функции почек после чрескожного коронарного вмешательства

Фактор риска	Число баллов		
Снижение уровня систолического АД < 80 мм рт. ст. длительностью более 1 ч, инотропная поддержка или внутриаортальная контрпульсация в течение 24 ч после процедуры	5		
Применение внутриаортальной контрпульсации	5		
Сердечная недостаточность III-IV ФК (по NYHA), отек легких в анамнезе или их сочетание	5		
Возраст более 75 лет	4		
Гематокрит менее 39% (мужчины) или менее 36% (женщины)	3		
	3		
Сахарный диабет	3		
Объем РКС	1 для каждых 100 мл		
Scr > 133 мкмоль/л или СКФ (по MDRD)	4		
40-60 мл/мин/1,73 м ²	2		
20-39 мл/мин/1,73 м ²	4		
< 20 мл/мин/1,73 м ²	6		
Категория риска	Сумма баллов риска	Риск увеличения уровней Scr > 25% или > 0,5 мг/дл (44 мкмоль/л), %	Риск диализа, %
Низкий	5	7,5	0,04
Умеренный	6-10	14	0,12
Высокий	11-15	26,1	1,09
Очень высокий	16	57,3	12,6

Таблица 4

Стратификация риска развития острого снижения функции почек (рост $Scr_{e} \geq 88,4$ мкмоль/л после чрескожного коронарного вмешательства)

Фактор риска	Число баллов
Клиренс креатинина <60 мл/мин,	2
Применение внутриаортальной контрпульсации	2
Проведение рентгеноконтрастной процедуры по ургентным показаниям	2
Застойная сердечная недостаточность	1
Гипертензия	1
Сахарный диабет	1
Заболевания периферических сосудов	1
Объем РКС > 260 мл	1

Примечание. При сумме баллов ≤ 1 РКН не развивается; при сумме баллов ≥ 9 РКН развивается у 26% больных.

Кроме того, предложены (и продолжают предлагаться) различные оценки степени риска РКН в баллах, например, представленные в табл. 3 и 4.

Вид контраста, доза, путь введения, повторные рентгеноконтрастные исследования являются существенными факторами риска РКН.

В настоящее время доступны разные рентгеновские контрасты (табл. 5).

Внедренные в медицинскую практику до 1969 г. йодсодержащие органические РКС представляют собой соли, диссоциирующие в водных растворах, что, помимо прочего, увеличивает их осмоляльность, которая превышает 1500 мосм/кг H_2O . Препараты второй генерации (неионные, низкоосмолярные – см. табл. 5) имеют осмоляльность 600-850 мосм/кг H_2O . Наконец, самыми современными рентгеноконтрастными средствами являются низкоосмолярные неионные препараты, практически изотоничные плазме крови (осмоляльность ~ 290 мосм/кг H_2O). Представителем данного класса рентгеновских контрастов является йодиксанол (визипак).

Помимо этого по химической структуре РКС делятся на мономеры и димеры. К последним из указанных в табл. 5, относятся только йоксоглат и йодиксанол.

Согласно имеющимся свидетельствам в популяциях больных с высоким риском РКН (пациенты с имеющейся почечной недостаточностью или диабетом), как низкоосмолярные, так и осмолярные контрасты приводят к уменьшению риска развития нефропатии по сравнению с высокоосмолярными препаратами.

Более сложным является вопрос о преимуществах низкоосмолярных РКС перед высокоосмолярными. Во всяком случае, у лиц с нормальной функцией почек различия в частоте РКН при применении низкоосмолярных контрастов и йодиксанола обнаружено не было. Тем не менее, результаты исследования NERHRIC показали, что вероятность развития РКН у больных из групп высокого риска при применении йодиксанола в 11 раз меньше, чем при применении йогексола. Дальнейшие разработки, скорее, подтвердили несколько меньшую потенциальную нефротоксичность низкоосмолярных РКС перед высокоосмолярными, хотя результаты их были отнюдь не столь впечатляющими, как исследования NERHRIC. Например, данные, приведенные в одном из недавних метаанализов, показали, что частота встречаемости РКН после применения йодиксанола и низкоосмолярных РКН в общей группе больных составила: 1,4% против 3,5% ($p < 0,001$); у пациентов с ХБП: 2,8% против 8,4% ($p = 0,001$), а при сочетании ХБП с СД: 3,5% против 15,5% ($p = 0,003$). С другой стороны в исследовании CARE, вообще, не было обнаружено значимых преимуществ йодиксанола перед высокоосмолярным контрастом йопамиолом у пациентов из групп высокого риска.

К сожалению, несмотря на более низкую токсичность и лучшую переносимость, неионные контрасты из-за высокой стоимости в России и ряде других стран пока не вытеснили полностью ионные РКС.

Доза контраста коррелирует с частотой нефротоксичности. При этом средний объем вводимого РКС при диагностической коронарографии составляет примерно 100 мл, при эндоваскулярных опе-

Таблица 5

Наиболее распространенные рентгеновские контрасты

Контраст	Осмоляльность	Ионный или не ионный	Коммерческое название
Диатризоат (амидотризоат)	Высокая (1530 мосм/кг H_2O)	Ионный	Урографин Верографин Тразограф Гипак и др.
Йоксаглат	Низкая (580 мосм/кг H_2O)	Ионный	Гексабрис
Йодиксанол	Изо- (290 мосм/кг H_2O)	Неионный	Визипак
Йогексол	Низкая (640 мосм/кг H_2O)	Неионный	Омнипак
Йопамидол	Низкая (616 мосм/кг H_2O)	Неионный	Йопамиро
Йоверсол	Низкая (645 мосм/кг H_2O)	Неионный	Оптирей
Йопромид	Низкая (610 мосм/кг H_2O)	Неионный	Ультравист

ративных вмешательствах на коронарных сосудах может достигать 250-300 мл и более. Однако при введении менее 100 мл контраста осложнения со стороны почек возникают редко. В связи с этим предложены формулы, позволяющие рассчитать объем вводимого контраста в зависимости от состояния функции почек, например:

$$\text{Объем вводимого контраста}_{\text{мл}} = 5 \times [\text{MT}_{\text{кг}} / \text{Scr}_{\text{мкмоль/л}} / 88,4]$$

По данным одного из исследований, только у двух процентов пациентов, у которых объем вводимого контраста ограничивался рассчитанным, развилась РКН. У больных с неконтролируемым количеством вводимого контраста РКН была отмечена в 26% случаев.

Способ введения РКС тоже имеет немаловажное значение в плане развития РКН. При внутриартериальном введении препарата это осложнение регистрируется гораздо чаще, чем при внутривенном. Например, Q.A. Rao и J.H. Newhouse привели такие данные: только в 40 (1,3%) из 3081 проанализированных ими публикаций, описаны пациенты, которым контраст вводили внутривенно. Лишь в двух исследованиях с внутривенным введением контраста имелись контрольные группы из больных, не получавших РКС. Частота постконтрастной нефропатии в этих наблюдениях не отличалась существенно от частоты ОПН в контрольных группах [11].

Важно, однако, что вероятность появления РКН при артериальном введении рентгеноконтрастного препарата не зависит от того, какая сосудистая область исследуется (коронарные сосуды, почки, сосуды конечностей).

Наконец, весьма негативную роль играют повторные рентгеноконтрастные исследования. По возможности не следует проводить повторную рентгеноконтрастную процедуру до тех пор, пока концентрация сывороточного креатинина не вернется к исходному уровню. Желательный интервал между исследованиями составляет 2-3 недели, минимальный – 5 суток. *Наиболее опасно повторное введение контраста в течение ближайших 48 ч после предыдущего.*

Проведение рентгеноконтрастной процедуры на фоне приема представленных выше и других потенциально нефротоксичных лекарственных препаратов значительно увеличивает риски РКН. *По общему правилу, нефротоксичные препараты должны отменяться как минимум за двое суток перед рентгеноконтрастным исследованием.* Отдельную проблему представляет прием ин-

гибиторов ангиотензин I-превращающего фермента. Этот вопрос более подробно будет рассмотрен далее.

Что касается альтернативных рентгеновских контрастов, то выбор тут невелик. Таким веществом, по сути, является двуокись углерода. Углекислый газ может использоваться в качестве единственной контрастной среды или в сочетании с небольшими дозами йодсодержащих контрастов. Нефротоксичность CO_2 минимальна или вообще отсутствует, однако применение данного газа в качестве рентгеноконтрастного агента для получения удовлетворительного качества изображения требует наиболее современных технологий (цифровая сабтракционная ангиография). С другой стороны существенным ограничением в использовании двуокиси углерода в рентгеноконтрастных процедурах является ее выраженная нейротоксичность, при непосредственном введении в сосуды мозга или при наличии внутрисердечного шунта «справа-налево». Поэтому CO_2 может применяться только в исследованиях областей, расположенных ниже диафрагмы.

Иногда, хотя далеко не всегда, необходимую информацию можно получить, заменяя рентгеноконтрастные исследования другими методами: ультразвуковыми, компьютерной томографией (КТ) – без использования рентгеновских контрастов или магнитно-резонансной томографией (МРТ).

Отдельного внимания заслуживает МРТ. Парамагнитные контрастные агенты, которые обычно вводятся внутривенно, при МРТ играют ту же роль, что и йодсодержащие рентгеновские контрасты при КТ или ангиографии. Большинство МР-контрастов, используемых в клинической практике, представляют собой хелатные соединения тяжелого металла – гадолиния. При этом ренальный путь выведения для данных препаратов является основным. Вопрос о нефротоксичности контрастов на основе гадолиния остается спорным. Результаты ряда исследований показали, что хелаты гадолиния, по крайней мере в низких дозах, не обладают или почти не обладают нефротоксичностью. В то же время данные, полученные в других наблюдениях, в которых высокие дозы МР-контрастов сравнивались с введением йогексола, выявили практически идентичную частоту нефротоксичности у пациентов с выраженной почечной дисфункцией ($\text{Scr} \sim 283$ мкмоль/л). С другой стороны, помимо потенциальной нефротоксичности, хелаты гадолиния могут способствовать развитию еще одного крайне неприятного осложнения, т. н. «нефрогенного системного фиброза (НСФ)». Тяжесть данного осложнения оказывается более выражен-

ной у больных, получающих терапию гемодиализом или имеющих исходные значения расчетной СКФ менее 30 мл/мин. В данной связи некоторые авторы рекомендуют у таких больных предпочесть риск РКН при введении йодсодержащих рентгеновских контрастов, использовав весь комплекс профилактических мер, риску нарастания тяжести НСФ при применении препаратов гадолиния. Скорее всего МРТ с использованием контрастов на основе гадолиния, в настоящее время можно рассматривать в качестве альтернативного метода, в основном, у пациентов с аллергией на йодсодержащие рентгеновские контрасты.

Подходы к «вторичной» профилактике РКН иногда подразделяют на: *имеющие «надежные» доказательства; подходы, эффективность которых возможна; подходы, эффективность которых сомнительна и перспективные подходы, требующие подтверждения* (по другой градации – методы «с аргументированными клиническими доказательствами», методы с «противоречивыми клиническими доказательствами», методы с «ограниченными клиническими доказательствами»). Подобные классификации представляются нам не вполне приемлемыми, хотя бы потому, что использование того же N-ацетилцистеина (АЦЦ) может относиться, как к способам, «*имеющим надежные доказательства*», так и к методам с «*противоречивыми клиническими доказательствами*».

Гидратация. По общему мнению, подтвержденному результатами многих исследований, адекватная гидратация остается наиболее надежным методом профилактики РКН. В то же время сведения о способах, объеме и длительности гидратации остаются довольно противоречивыми. При этом используются методы как перорального, так внутривенного введения жидкости. Среди имеющихся рекомендаций существует, например, такая: 0,45% раствор NaCl в/в – 1 мл/кг/ч за 12 ч до проведения рентгеноконтрастной процедуры и 12 ч после (желательно поддерживать уровень диуреза примерно 150 мл/ч).

Другие авторы приводят сведения о преимуществе изотонического (0,9%) раствора хлорида натрия над полуизотоническим (0,45%). Понятно, что на практике реализовать схемы с инфузией изотонического или полуизотонического растворов в течение 24 ч непросто. Поэтому применяют и схемы с меньшей продолжительностью инфузий, например, 3 мл/кг изотонического раствора хлорида натрия за час до процедуры и 1 мл/кг в час в течение 6 ч после процедуры. Учитывая быструю всасываемость жидкости в желудочно-кишечном

тракте, возникает резонный вопрос о проведении пероральной гидратационной профилактики. Тем более, рекомендации ESUR предполагают, что больной должен получать, по крайней мере, 100 мл жидкости перорально или внутривенно каждый час в течение 4 часов до и 24 часов после введения РКС. При высокой температуре окружающей среды введение жидкости, естественно, должно увеличиваться и обеспечивать диурез не менее 1 мл/мин.

Следует, однако, учитывать, что внутривенный режим гидратации намного более эффективен, чем пероральный. Например, у пациентов, получавших инфузии раствора NaCl (12 ч до и 12 ч после рентгеноконтрастной процедуры; 1 мл/кг/ч), частота РКН составила 4% против 35% у больных, получавших питье *per os*. В целом, данные о необходимой длительности инфузионной гидратационной профилактики варьируют от 1–12 ч до и 4–24 ч после процедуры. К сожалению, вопрос об оптимальном режиме гидратации в плане профилактики РКН следует признать открытым. Решать его приходится врачу в каждом конкретном случае, опираясь на собственные знания и опыт. По-видимому, чем больше степень риска развития РКН, тем более агрессивной должна быть тактика гидратационной профилактики. Нельзя забывать и том, что массивная гидратация неприемлема в ряде ситуаций, например при состояниях, связанных с задержкой жидкости, в частности при застойной сердечной недостаточности.

Бикарбонат натрия. Некоторые исследования показали определенные преимущества гидратационной профилактики с использованием в качестве инфузионной среды растворов бикарбоната натрия. При этом предполагается, что повышение рН тубулярной жидкости приводит к уменьшению содержания активных радикалов кислорода и таким образом уменьшает степень повреждения канальцевых клеток. В одном из исследований было показано, что применение раствора бикарбоната натрия (154 мэкв/л) в течение 1 ч до рентгеноконтрастной процедуры (3,0 мл/кг массы тела в час) и 3 ч после исследования (1,0 мл/кг массы тела в час) достоверно снижает риск развития РКН по сравнению с аналогичным режимом назначения хлорида натрия (1,7 и 13,6%, $p=0,02$; соответственно).

N-ацетилцистеин. После гидратационной профилактики, применение АЦЦ является, наверное, вторым по популярности подходом к снижению риска РКН. При этом исходят из предположений, о том, что он оказывает вазодилататорный эффект на сосуды почек и обладает свойствами антиоксиданта.

Число исследований целесообразности применения этого препарата в плане профилактики РКН, наверное, превосходит число оценок эффективности всех остальных подходов вместе взятых. Кроме того, в литературе до настоящего времени продолжается энергичная дискуссия о смысле применения АЦЦ для снижения риска РКН. Объем настоящего сообщения не позволяет рассмотреть все эти *pro* и *contra*. Поэтому отметим только, что в одном из недавних подробных обзоров были детально проанализированы сведения об итогах применения АЦЦ для профилактики РКН, накопленные к 2005 г. Авторы пришли к заключению о том, что, несмотря на имеющиеся контраргументы, в настоящее время АЦЦ скорее всего будет продолжаться использоваться по этим показаниям, хотя бы потому, что он дешев и относительно безопасен в низких дозах. В то же время они полагают (с чем мы полностью согласны), что клиницисты должны быть предупреждены о неопределенности эффективности этого препарата. Применяется или нет АЦЦ любым путем, для профилактики РКН должны использоваться и другие подходы: гидратация изотоническим раствором или раствором бикарбоната, отказ от потенциально нефротоксичных препаратов и минимизация объема рентгеноконтрастного вещества.

Такая точка зрения, практически, нашла подтверждение и в одном из недавних метаанализов хотя к моменту подготовки данной лекции (июль 2007 г.) в литературе появились новые свидетельства как за, так и против целесообразности использования АЦЦ в качестве средства профилактики РКН.

Одной из проблем при оценке целесообразности использования АЦЦ для профилактики РКН является несогласованность в отношении доз, путей введения и длительности назначения препарата.

В настоящее время используют пероральный, внутривенный и комбинированный пути введения. В последнем случае сочетают внутривенное и пероральное назначение препарата.

При применении АЦЦ *per os* лекарство обычно назначают в дозах от 200 до 1200 мг 2 раза в сутки в течение 24 ч до и 24 после рентгеноконтрастной процедуры. *Наиболее распространенным режимом в настоящее время считается применение per os 600 мг × 2 р. за сутки до выполнения и в первые сутки после введения РКС.*

Перспективы внутривенного введения АЦЦ в настоящее время интенсивно изучаются. Вопрос о дозах, вводимых внутривенно, остается открытым. В литературе описаны, например, такие варианты: болюсом 600 мг перед и по 600 мг внутрь

дважды в сутки в течение 48 часов – общая доза 3000 мг; 1200 мг внутривенным болюсом с последующим пероральным приемом по 1200 мг дважды в сутки в те же сроки – общая доза 6000 мг; в/в в дозе 150 мг/кг в течение 5 ч перед вмешательством и 50 мг/кг не менее 4 ч после вмешательства; болюсом (или 150 мг/кг за 30 мин до вмешательства в 500 мл изотонического раствора хлорида натрия) и 12,5 мг/кг/ч в течение последующих 24 часов (или 50 мг/кг в 500 мл изотонического раствора хлорида натрия в течение 4 ч). Обратный вариант – АЦЦ сначала назначается перорально (1200 мг 2 р/сут перед вмешательством), а затем внутривенно (600 мг 2 р в сутки после операции).

Тем не менее, внутривенное введение высоких доз АЦЦ может ассоциироваться с развитием тяжелых анафилактических реакций. Поэтому ряд существующих современных рекомендаций не предусматривает рутинного использования внутривенного введения АЦЦ в качестве профилактики РКН. *По нашему мнению, в/в назначение АЦЦ в умеренных дозах (600 мг) перед исследованием целесообразно при необходимости проведения рентгеноконтрастной процедуры по ургентным показаниям.*

Тем не менее, стоит иметь в виду, что если АЦЦ и эффективен для снижения риска РКН, то его ренопротекторное действие доза-зависимо. Кроме того, есть основания полагать, что этот препарат не дает существенного эффекта при введении больших объемов контраста (> 140 мл).

Антагонисты аденозина (теофиллин и аминофиллин). Активации эндогенного аденозина в патогенез РКН придают отдельное значение. Считается, что под его влиянием усиливается почечная вазоконстрикция (в большей степени выносящих артериол), что, в целом, ведет к уменьшению почечного кровотока и перфузионного давления. Тем не менее, исследования эффективности теофиллина или аминофиллина в плане профилактики РКН дали противоречивые результаты. Как и во многих предыдущих случаях остается не решенным вопрос о дозах и способах введения этих средств. В частности, предложены следующие схемы назначения метилксантинов:

- Теофиллин (per os) 200 мг 2 раза в сутки за 24 ч до процедуры и по той же схеме в течение 48 ч после процедуры
- 200 мг теофиллина/70 кг массы тела в виде в/в инфузии за 30 мин до процедуры
- 200 мг аминофиллина в/в до введения контраста.

Хотя результаты некоторых последних исследований указывают на то, что теофиллин в плане

профилактики РКН даже может превосходить АЦЦ, *в настоящее время в практике от использования антагонистов аденозина с этой целью пока следует воздержаться.*

Допамин и фенолдопам. Принято считать, что в низких («почечных») дозах (1-3 мкг/кг массы тела в минуту) допамин стимулирует два типа допаминэргических рецепторов: D_1 и D_2 . При этом активация D_2 -рецепторов приводит к вазоконстрикции, а D_1 увеличивает почечный кровоток и натрийурез. В «почечных» дозах, как полагают, допамин преимущественно стимулирует D_1 -рецепторы. Поэтому предполагаемая способность данного препарата в низких дозах вызывать почечную вазодилатацию широко использовалась и продолжает использоваться в попытках восстановления функции почек при разных вариантах ОПН. Эти же особенности действия доamina навели на мысль об его применении в профилактике РКН. Несмотря на отдельные исключения, в целом такие попытки оказались неудачными. *В настоящее время существует практически полное согласие в том, что применение доamina не дает существенного нефропротекторного эффекта при проведении рентгеноконтрастных процедур.*

Кроме того, есть серьезные сомнения в том, что в «почечных» дозах допамин вообще может оказывать какое-либо влияние на тонус ренальных сосудов. Наконец, серьезным ограничением в его использовании у пациентов с ИБС (одна из основных групп больных, которым проводятся рентгеноконтрастные исследования) может считаться потенциальное аритмогенное действие препарата.

Фенолдопам является селективным агонистом D_1 -рецепторов. Под его влиянием происходит дилатация периферических, мезентериальных и почечных артерий. При этом, в почках фенолдопам, по-видимому, в большей степени увеличивает ме-дуллярный кровоток. Экспериментальные исследования на собаках с контраст- индуцированной нефропатией навели на мысль о том, что стимуляция D_1 -рецепторов обладает нефропротекторным действием, тогда как блокада этих же рецепторов усугубляет снижение почечного кровотока и СКФ после введения РКС. Первые результаты исследований у людей дали, казалось бы, позитивные данные в плане целесообразности использования этого препарата для профилактики РКН. Однако в большинстве более поздних проспективных рандомизированных исследований такой эффект фенолдопама подтверждения не нашел.

Серьезным препятствием использования фенолдопама для профилактики РКН является его

способность вызывать гипотензию. В одной недавно опубликованной работе сравнивали внутривенное и интратенальное (в почечную артерию) введение фенолдопама. В последнем случае отмечено меньшее снижение СКФ и системного артериального давления. Вопрос о том, насколько такая технология может найти практическое применение, остается открытым.

Некоторые авторитетные специалисты считают, что *использование фенолдопама в стратегии профилактики РКН не имеет существенных перспектив.*

Диуретики. Роль форсирования диуреза на фоне гидратации в плане снижения степени риска развития РКН изучалась в основном при использовании петлевого диуретика – фуросемида и осмотического – маннитола. Результаты некоторых разработок навели на мысль о перспективности данного подхода в смысле профилактики РКН. Однако при исследовании 78 пациентов, подвергшихся ангиографии сердца, было обнаружено, что частота РКН у больных, получавших только инфузии полуизотонического раствора NaCl, составила – 11%, получавших солевой раствор вместе с маннитолом – 28%, получавшим солевой раствор вместе с фуросемидом – 40%. При этом только частота развития РКН у больных, получавших фуросемид, достоверно превышала значения этого показателя у пациентов, которым назначались инфузии маннитола. В другой работе было обследовано 98 больных получавших в/в гидратацию, фуросемид, низкие дозы доamina или маннитол. Достоверной разницы между группами в частоте снижения функции почек через 48 ч после введения контраста обнаружено не было. *Таким образом, маннитол, по крайней мере, не дает дополнительного позитивного эффекта в плане профилактики РКН, а фуросемид, по-видимому, даже может способствовать ее развитию.*

Аскорбиновая кислота. Антиоксидантные свойства аскорбиновой кислоты также навели на мысль о целесообразности ее применения для снижения риска развития РКН. При обследовании 231 больного с уровнем Scr > 1,2 мг/дл (106 мкмоль/л), подвергнутого чрескожным кардиоинтервенционным вмешательствам, было найдено, что пероральный прием аскорбиновой кислоты (3,0 г за 2 ч до процедуры, 2,0 г на ночь после исследования и 2,0 г на следующее утро), действительно, ассоциируется с небольшим, но статистически достоверным снижением вероятности развития РКН.

С другой стороны, результаты исследования REMEDIAL показали, что дополнение профилактических мер (солевой раствор плюс АЦЦ) аскор-

биновой кислотой не приводит к существенному снижению вероятности развития РКН и оба этих подхода в равной степени по эффективности значительно уступают комбинированному назначению бикарбоната натрия и АЦЦ [12].

Доступность и дешевизна аскорбиновой кислоты делают ее профилактическое использование у пациентов, подвергающихся рентгеноконтрастным исследованиям весьма привлекательным. *В то же время эффективность данного подхода должна быть проверена в мультицентровых контролируемых исследованиях.*

Ингибиторы АПФ. Ингибиторы АПФ являются одной из наиболее спорных групп лекарственных препаратов, предлагаемых для профилактики РКН. Большинство исследователей придерживается точки зрения о том, что данные лекарства не только не снижают, но даже увеличивают риск постконтрастной нефропатии. С другой стороны в одной из разработок, авторы которой предположили, что в патогенезе развития РКН активация РАС играет очень важную роль, было найдено, что назначение каптоприла перед рентгеноконтрастной процедурой может снижать частоту РКН. Несмотря на то, что последние данные представляют несомненный интерес, они требуют подтверждения. *В настоящее время использовать ингибиторы АПФ с целью профилактики РКН рекомендовать нельзя. Правильнее отменить данные средства перед проведением рентгеноконтрастного исследования.*

Блокаторы кальциевых каналов (БКК). Применение БКК с целью профилактики РКН не менее сложный вопрос, чем использование ингибиторов АПФ. БКК в целом в большей степени снижают тонус приносящей артериолы, чем выносящей, что особенно характерно для дигидропиридиновых блокаторов кальциевых каналов (недигидропиридиновые БКК в определенной мере уменьшают тонус и эфферентной артериолы, в чем их действие сближается с гемодинамическим эффектом ИАПФ). При повышенном уровне системного артериального давления данный эффект дигидропиридинов приводит к усугублению интрагломерулярной гипертензии со всеми вытекающими отсюда отрицательными последствиями.

В плане профилактики РКН в основном изучались дигидропиридины с разной длительностью действия. Результаты данных исследований оказались неоднозначными, но, в частности, было найдено, что назначение фелодипина (10 мг за 4 ч до процедуры на фоне адекватной гидратации) ассоциируется с большим приростом Scr, по сравнению с плацебо). Так или иначе, *данные, имеющиеся на*

сегодняшний момент, не позволяют рекомендовать БКК в качестве средств профилактики РКН.

Статины помимо гиполипидемического действия могут улучшать растяжимость артерий (за счет влияния на эндотелий-зависимую вазодилатацию) и снижать выраженность воспалительного и оксидативного стрессов. Результаты опубликованного к настоящему времени ретроспективного исследования позволили предположить, что применение этих препаратов, действительно, может снизить частоту развития РКН. *Однако перспективы применения ингибиторов ГМГ-Ко-А-редуктазы, непосредственно, как препаратов, профилактирующих развитие РКН, нуждаются в дальнейшем изучении.*

Другие лекарственные средства. В качестве лекарственных препаратов, способствующих снижению риска РКН, в клинических и экспериментальных исследованиях в последние годы изучаются атриальный натрийуретический пептид (анаритид), антагонисты эндотелина, простагландин E₁, L-аргинин, эритропоэтин. Судить о перспективах этих подходов придется в будущем.

Превентивный гемодиализ или гемофильтрация в профилактике РКН. Рентгеновские контрасты хорошо выводятся при гемодиализе, что послужило основой для использования данной процедуры в плане профилактики РКН. Тем не менее, проведенные исследования дали неоднозначные результаты. В частности, было показано, что гемодиализ может даже ухудшить состояние почек у пациентов после рентгеноконтрастного исследования вследствие усугубления гиповолемии, и, соответственно, ишемии почек. Ограниченное число исследований, в основном проведенных итальянскими специалистами, позволило предположить, что применение гемофильтрации до и после рентгеноконтрастной процедуры у пациентов с высокой степенью риска РКН (Scr > 4,0 мг/дл) в плане профилактики дальнейшего ухудшения функции почек более эффективно, чем применение солевых растворов или гемодиализа. *Роль методов экстракорпорального очищения крови для профилактики РКН требует дальнейшего изучения, и они едва ли могут быть рекомендованы в рутинную клиническую практику.*

В практической деятельности важное место в профилактике РКН занимает предотвращение аллергических последствий введения рентгеновских контрастов. Атопические реакции, индуцируемые РКС, обусловлены высвобождением гистамина и других медиаторов. Они встречаются чаще у пациентов, склонных к аллергическим забо-

леваниям, и представляют одну из основных опасностей при клиническом использовании РКС. Хемотоксические эффекты рентгеновских контрастов наблюдаются практически всегда и частично объясняются осмотической активностью РКС, их липофильностью, электрическим зарядом, способностью взаимодействовать с биомакромолекулами и др.

Для уменьшения риска развития анафилактических реакций следует применять премедикацию (антигистаминные препараты, глюкокортикоиды, адrenomиметики и др.).

В частности, существует следующая схема:

- За 12 часов до проведения рентгеноконтрастной процедуры назначить 40 мг преднизона или 32 мг метилпреднизолона *per os*

- За 2 ч до процедуры вновь назначить 40 мг преднизона или 32 мг метилпреднизолона и 300 мг циметидина или 150 мг ранитидина *per os*

- Непосредственно перед процедурой ввести внутривенно 50 мг дифенгидрамина (димедрол, бенадрил). В качестве альтернативы может использоваться пероральное назначение дифенгидрамина в той же дозе за 2 ч до исследования.

С другой стороны, в нашей практике хороший клинический эффект доказала другая простая схема профилактики анафилактических реакций при использовании РКС. Непосредственно перед введением йодсодержащего рентгеновского контраста пациенту внутривенно болюсом вводятся:

- преднизолон 30-60 мг (или эквивалентная доза любого другого препарата глюкокортикоидных гормонов),

- 20-40 мг хлоропирамина (супрастин) – 1,0-2,0 мл,
- или 2 мг клемастина (тавегил) – 2,0 мл,
- 10 мл 10% р-ра глюконата кальция.

Премедикация по данной схеме почти всегда позволяет избежать нежелательных аллергических реакций после введения РКС.

Рентгеноконтрастные процедуры, особенно связанные с внутриартериальным введением контраста у представителей групп высокого риска РКН, должны проводиться только в стационаре.

Специфического лечения РКН как таковой не существует. Основной упор переносится на меры профилактики (см. выше). В подавляющем большинстве случаев транзитное нарастание Scg или снижение СКФ разрешается самопроизвольно и требует только наблюдения за состоянием почечной функции.

Тяжелые случаи РКН, приведшие к развитию олигоурической ОПН, лечатся по общим принципам терапии острой почечной недостаточности, в том числе с использованием методов заместительной почечной терапии. *Показания к началу ЗПТ в*

данной ситуации не отличаются от показаний при других вариантах ОПН. При этом пациенты с олигоурической ОПН, возникшей вследствие введения РКС, должны находиться либо в отделениях интенсивной терапии, либо в специализированных нефрологических центрах, обладающих возможностями для проведения ЗПТ при ОПН. Соответствующим образом ведение таких больных должно осуществляться реаниматологами или нефрологами, владеющими методами эфферентной почечной терапии. При необходимости, в качестве консультантов должны привлекаться специалисты по профилю основной патологии, способствовавшей развитию РКН: кардиологи, диabetологи, сосудистые хирурги и др.

Больные, перенесшие транзитное нарастание (более 25% от исходного уровня) сывороточного креатинина после рентгеноконтрастных вмешательств, подлежат наблюдению врачами общей практики. Каких-либо общепринятых рекомендаций по контролю за состоянием функции почек у таких пациентов не существует. Мы полагаем, что в данной ситуации должно проводиться измерение Scg через один, три, шесть и двенадцать месяцев после выписки пациента, дополненное вычислением одного из «расчетных» значений СКФ. Тенденция к нарастанию концентрации сывороточного креатинина или снижения уровня СКФ должна служить основанием для консультации нефролога. Тактика последующего наблюдения за пациентами с тяжелыми вариантами РКН (олигоурическая ОПН и ОПН, потребовавшая ЗПТ) индивидуальна. В случае необходимости длительного применения ЗПТ, при удовлетворительном общем состоянии пациент может находиться на амбулаторном диализе.

Следует подчеркнуть, что пациент, которому планируется рентгеноконтрастное исследование, должен быть информирован о возможных негативных последствиях этой процедуры. Ему также должна быть предоставлена информация о наличии и степени факторов риска, имеющихся у него лично. Кроме того больного следует предупредить о недостатках или преимуществах разных видов рентгеновских контрастов, имеющихся в настоящее время на рынке.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Волгина ГВ. Контраст-индуцированная нефропатия: патогенез, факторы риска, стратегия профилактики (часть I). *Нефрология и диализ* 2006; 8(1): 69-77
2. Волгина ГВ. Контраст-индуцированная нефропатия: патогенез, факторы риска, стратегия профилактики (часть II). *Нефрология и диализ* 2006; 8(2): 176-183
3. Bartholomew BA, Harjai KJ, Dukkipati S et al. Impact of nephropathy after percutaneous coronary intervention and a method for risk stratification. *Am J Cardiol* 2004; 93(12):1515-1519

4. Bailey SR. Past and present attempts to prevent radiocontrast nephropathy. *Rev Cardiovasc Med* 2001; 2 [suppl 1]: S14-S20
5. McCullough PA, Sandberg KR. Epidemiology of contrast-induced nephropathy. *Rev Cardiovasc Med* 2003; 4 [suppl 5]: S3-S9
6. Mehran R, Ashby DT. Radiocontrast-induced acute renal failure: Allocations and outcomes. *Rev Cardiovasc Med* 2001; 2 [suppl 1]: S9-S13
7. Cox CD, Tsikouris JP. Preventing contrast nephropathy: What is the best strategy? A Review of the literature. *J Clin Pharmacol* 2004; 44: 327-337
8. Huber W, Eckel F, Hennig M et al. Prophylaxis of contrast material-induced nephropathy in patients in intensive care: Acetylcysteine, Theophylline, or both? A randomized study. *Radiology* 2006; 239: 793-804
9. Pannu N, Wiebe N, Tonelli M. Prophylaxis strategies for contrast-induced nephropathy. *JAMA* 2006; 295 (23): 2765-2779
10. Yoshinori I, Takahisa Y, Toshiaki S, Ryozo O. Clinical and experimental evidence for prevention of acute renal failure induced by radiographic contrast media. *J Pharmacol Sci* 2005; 97: 473-488
11. Rao QA, Newhouse JH. Risk of nephropathy after intravenous administration of contrast material: a critical literature analysis. *Radiology* 2006; 239(2):392-397
12. Briguori C, Airolidi F, D'Andrea D et al. Renal insufficiency following contrast media administration trial (REMEDIAL): a randomized comparison of 3 preventive strategies. *Circulation* 2007;115(10):1211-1217

Поступила в редакцию 17.05. 2007 г.
Принята в печать 22.06.2007 г.

Журнал «Нефрология» публикует сообщения по актуальным вопросам клинической и экспериментальной нефрологии и смежных областей (физиология и патология водно-солевого гомеостаза, состояние почек при других заболеваниях, методы эфферентной терапии и т.д.). Журнал представляет информацию в следующем виде:

- Передовые статьи
- Обзоры и лекции
- Оригинальные статьи
- Краткие сообщения
- Наблюдения из практики
- Методические сообщения
- Дискуссия и информация (дискуссионные статьи, рецензии, письма в редакцию, сообщения о планах проведения конференций, симпозиумов, съездов по нефрологии в России и за рубежом, отчеты о них, аннотации новых книг по нефрологии и т.д.)
- Материалы для последипломного образования по нефрологии
- Реклама.

В разделе «Передовые статьи» публикуются работы, выполненные преимущественно по заказам редакции.

Все представляемые материалы рецензируются и обсуждаются редакционной коллегией.

Общие правила. Рукопись статьи должна быть представлена в двух экземплярах, напечатанной шрифтом не менее 12 через 2 интервала на одной стороне белой бумаги формата А4 (210x295 мм) с полями в 2,5 см по обе стороны текста.

Текст и таблицы должны быть продублированы на дискете (3,5 дюйма)! Текстовый файл должен иметь расширение, соответствующее тому редактору, в котором он был набран (ТХТ или DOC), в нем не должно быть переносов, имена файлов должны быть латинскими. Желательно не выравнивать правую границу текста, не делать в набранном тексте никаких выделений (полужирный шрифт, курсив и т.д.). Все выделения следует отмечать в распечатке. Не надо вводить нецифровые символы (квадраты, кружки и т. д.).

Рукопись статьи должна включать: 1) титульный лист; 2) реферат; 3) ключевые слова; 4) введение; 5) пациенты и методы (материал и методы – для экспериментальных работ); 6) результаты; 7) обсуждение; 8) заключение; 9) таблицы; 10) подписи к рисункам; 11) иллюстрации; 12) библиографический список; 13) сведения об авторах.

Для обзоров, лекций, дискуссионных статей наличие реферата не требуется. Рубрикация этих работ может быть произвольной.

К статье должно быть приложено официальное направление учреждения, в котором проведена работа. На первой странице статьи должна быть виза и подпись научного руководителя, заверенная круглой печатью учреждения. На последней странице статьи должны быть подписи всех авторов.

Объем оригинальной статьи, как правило, не должен превышать 10 – 15 машинописных страниц, кратких сообщений и заметок из практики – 6 – 8 страниц, лекций и обзоров – 20 – 25 страниц.

При упоминании отдельных фамилий авторов в тексте им должны предшествовать инициалы (фамилии иностранных авторов приводятся в оригинальной транс-

крипции). В тексте статьи библиографические ссылки даются арабскими цифрами в квадратных скобках. В библиографические списки не рекомендуется включать диссертационные работы, так как ознакомление с ними затруднительно.

Титульный лист должен содержать: 1) инициалы и фамилии авторов; 2) название статьи, которое должно быть информативным и достаточно кратким; 3) полное название учреждения и отдела (кафедры, лаборатории), в котором выполнялась работа (аббревиатуры, например, НИИ, СПбГМУ и т. д., недопустимы).

Реферат печатается на отдельной странице, он должен быть структурированным и *включать четыре обязательные рубрики:* а) цель исследования; б) пациенты и методы (материал и методы – для экспериментальных работ); в) результаты; г) заключение. Объем реферата должен быть не более 200 – 250 слов. На этой же странице помещаются «ключевые слова» (от 3 до 10 слов), способствующие индексированию статьи в информационно-поисковых системах.

Оригинальные статьи должны иметь следующую структуру:

Введение. В нем формулируется цель и необходимость проведения исследования, кратко освещается состояние вопроса со ссылками на наиболее значимые публикации.

Пациенты и методы (материал и методы – для экспериментальных работ). Приводятся количественные и качественные характеристики больных или других объектов исследования (здоровые люди, экспериментальные животные, патологоанатомический материал и т.д.). Упоминаются все методы исследований, применявшиеся в работе, включая методы статистической обработки данных. При упоминании аппаратуры и новых лекарств в скобках указывайте производителя и страну, где он находится.

Результаты. Их следует представлять в логической последовательности в тексте, таблицах и на рисунках. В тексте не следует повторять все данные из таблиц и рисунков, надо упоминать только наиболее важные из них. В рисунках не следует дублировать данные, приведенные в таблицах. Подписи к рисункам и описание деталей на них под соответствующей нумерацией надо представлять на отдельной странице. Величины измерений должны соответствовать Международной системе единиц (СИ), за исключением показателей, традиционно измеряемых в других единицах.

Место, где в тексте должны быть помещены рисунок или таблица, отмечается на поле страницы квадратом, в который помещается номер рисунка или таблицы.

Обсуждение. Надо выделять новые и важные аспекты результатов исследования и по возможности сопоставлять их с данными других исследователей, не следует повторять сведения, уже приводившиеся в разделе «Введение», и подробные данные из раздела «Результаты». В обсуждение можно включить обоснованные рекомендации.

Заключение должно кратко суммировать основные итоги работы.

Объединение рубрик (например, «Результаты и обсуждение») недопустимо!

Таблицы. Каждая таблица печатается на отдельной странице через два интервала и должна иметь название и

порядковый номер соответственно первому упоминанию ее в тексте. Каждый столбец в таблице должен иметь краткий заголовок (можно использовать аббревиатуры). Все разъяснения, включая расшифровку аббревиатур, надо размещать в сносках. Указывайте статические методы, использованные для представления вариабельности данных и достоверности различий.

При представлении на дискете таблицы следует записывать в отдельный файл (т.е. если статья содержит таблицы, желательно иметь два файла, текст без таблиц и отдельно таблицы). При наборе таблиц не надо использовать никакие символы, имитирующие линейки (псевдографику, дефис, символ подчеркивания).

Подписи к иллюстрациям печатаются на отдельной странице через 2 интервала с нумерацией арабскими цифрами, соответствующей номерам рисунков. Подпись к каждому рисунку состоит из его названия и «легенды» (объяснения частей рисунка, символов: стрелок и других его деталей). В подписях к микрофотографиям надо указывать степень увеличения, способ окраски или импрегнации.

Иллюстрации (рисунки, диаграммы, фотографии) представляются в двух экземплярах (фотографии – на гляцевой бумаге). На оборотной стороне рисунков мягким карандашом должны быть указаны: фамилия автора (только первого), номер рисунка, обозначение верха рисунка. Рисунки не должны быть перегружены текстовыми надписями.

Иллюстрации желательно продублировать на дискете в форматах *PCX, *TIF, *BMP, *JPG.

Библиографический список печатается на отдельном (ых) листе (ах) через 2 интервала, каждый источник с новой строки под порядковым номером. В списке все работы перечисляются в порядке цитирования (ссылок на них в тексте), а не по алфавиту фамилий первых авторов. Порядок составления библиографического списка следующий: а) автор (ы) книги или статьи; б) название книги или статьи; в) выходные данные. При авторском коллективе до 4 человек включительно упоминаются все авторы (с инициалами после фамилии), при больших авторских коллективах упоминаются три первых автора и добавляется «и др.» (в иностранной литературе «et al.»). В некоторых случаях в качестве авторов книг выступают их редакторы или составители, после фамилии последнего из них в скобках следует ставить «ред.» (в иностранных ссылках «ed.»).

В библиографическом описании книги (после названия) приводятся название издательства, город, год издания (все через запятую), после точки с запятой – номера страниц, на которые конкретно ссылается автор. Если ссылка дается на главу из книги, сначала упоминаются авторы и название главы, после точки – с заглавной буквы ставится «В» («In») и фамилия(и) автора(ов) или выступающего в его качестве редактора, затем название книги и выходные данные ее.

В библиографическом описании статьи из журнала (после ее названия) приводится сокращенное название журнала и год издания (между ними знак препинания не ставится), затем после точки с запятой – номер отечественного журнала (для иностранных журналов – № тома, в скобках № журнала), после двоеточия помещаются цифры первой и последней (через тире) страниц. В описаниях статей из иностранных журналов, имеющих сквозную нумерацию страниц на протяжении тома, указание номера журнала необязательно.

Названия отечественных журналов в библиографическом списке следует приводить в общепринятых сокращениях, иностранных – в рекомендованных Index Medicus.

Примеры:

КНИГИ

1. Волошин АИ, Субботин ЮК. *Болезнь и здоровье: две стороны приспособления*. Медицина, М., 1998; 5-17
2. Ноздрачев АД. *Функциональная морфология сердечно-сосудистой системы*. В: Чазов ЕИ, ред. *Болезни органов кровообращения*. Медицина, М., 1997; 8-89
3. Ringsven MK, Bond D. *Gerontology and leadership skills for nurses*, 2nd ed. Delmar Publishers, Albany (N.Y.), 1996; 44-50
4. Phillips SY, Whisnant YP. Hypertension and stroke. In: Laragh YH, Brenner BM, eds. *Hypertension: pathophysiology, diagnosis and management*, 2nd ed. Raven Press, New York, 1996; 465-478

ЖУРНАЛЫ

1. Шестакова МВ, Чугунова ЛА, Шамхалова МШ и др. *Диабетическая нефропатия: факторы риска быстрого прогрессирования почечной недостаточности*. *Тер Арх* 1999; (6): 45-49
2. Davis LK, Angus RM, Calverley MA. Oral corticosteroids in patients with chronic obstructive pulmonare disease. *Lancet* 1999; 354 (15): 456-460
3. Zucchelli P, Zuccala A. Can we accurately diagnose nephrosclerosis? *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10 [Suppl 6]: 2-5

Сведения об авторах печатаются на отдельном листе. Включают: фамилию, имя, отчество (полностью), место работы, должность, ученую степень и звание, полный почтовый адрес, номер телефона (с указанием кода города и, если статья представляется не из России, то и страны) каждого автора. Следует указать, с кем из авторов редакция может вести переписку и по возможности указать номер его факса и E-mail.

Редколлегия оставляет за собой право сокращать и редактировать статьи.

Статьи, ранее опубликованные или направленные в другой журнал или сборник, не принимаются.

Работы, оформленные не в соответствии с указанными правилами, возвращаются авторам без рассмотрения.

Подписка на журнал «НЕФРОЛОГИЯ» производится по каталогу агентства «Роспечать».
 Подписные индексы: для индивидуальных подписчиков – **45861**; для предприятий и организаций – **45860**; годовая подписка – **47959**.

Абонемент на журнал газета на журнал		индекс издания 45860	
НЕФРОЛОГИЯ		количество комплектов:	
наименование издания			
1	2	3	4
5	6	7	8
9	10	11	12
Куда почтовый индекс		адрес	
Кому фамилия, инициалы			

Доставочная карточка на журнал газета на журнал		индекс издания 45860	
НЕФРОЛОГИЯ		количество комплектов	
наименование издания			
Стоимость подписки руб.		коп.	
на 200 год по месяцам			
1	2	3	4
5	6	7	8
9	10	11	12
Куда почтовый индекс		адрес	
Кому фамилия, инициалы			

Абонемент на журнал газета на журнал		индекс издания 45861	
НЕФРОЛОГИЯ		количество комплектов:	
наименование издания			
1	2	3	4
5	6	7	8
9	10	11	12
Куда почтовый индекс		адрес	
Кому фамилия, инициалы			

Доставочная карточка на журнал газета на журнал		индекс издания 45861	
НЕФРОЛОГИЯ		количество комплектов	
наименование издания			
Стоимость подписки руб.		коп.	
на 200 год по месяцам			
1	2	3	4
5	6	7	8
9	10	11	12
Куда почтовый индекс		адрес	
Кому фамилия, инициалы			

<p style="text-align: center;">Абонемент на газету журнал</p> <div style="float: right; border: 1px solid black; padding: 2px; text-align: center;"> 47959 <small>индекс издания</small> </div> <hr/> <p style="text-align: center;">НЕФРОЛОГИЯ <small>наименование издания</small></p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr> <td style="width: 10%;">1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td><td>9</td><td>10</td><td>11</td><td>12</td> </tr> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> </table> <p>Куда <small>почтовый индекс</small> _____ <small>адрес</small></p> <hr/> <p>Кому _____ <small>фамилия, инициалы</small></p>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12													<p style="text-align: center;">Доставочная карточка на газету журнал</p> <div style="float: right; border: 1px solid black; padding: 2px; text-align: center;"> 47959 <small>индекс издания</small> </div> <hr/> <p style="text-align: center;">НЕФРОЛОГИЯ <small>наименование издания</small></p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tr> <td style="width: 15%;">Стоимость подписки</td> <td style="width: 15%;"><small>руб.</small></td> <td style="width: 15%;"><small>коп.</small></td> <td style="width: 15%;">Количество комплектов</td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> </tr> <tr> <td>на 200</td> <td>год</td> <td>по</td> <td>месяцам</td> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td><td>6</td><td>7</td><td>8</td><td>9</td><td>10</td><td>11</td><td>12</td> </tr> <tr> <td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td> </tr> </table> <p>Куда <small>почтовый индекс</small> _____ <small>адрес</small></p> <hr/> <p>Кому _____ <small>фамилия, инициалы</small></p> <p style="text-align: right;">Телефон: _____</p>	Стоимость подписки	<small>руб.</small>	<small>коп.</small>	Количество комплектов									на 200	год	по	месяцам	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																																										
Стоимость подписки	<small>руб.</small>	<small>коп.</small>	Количество комплектов																																																																		
на 200	год	по	месяцам	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																																						