



УДК 616.61-036.1-07-085.225

ИЗМЕНЕНИЕ ФОСФОЛИПИДНОГО СПЕКТРА МЕМБРАН ПОД ВЛИЯНИЕМ ГИПОТЕНЗИВНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК

Н.В. ДЕМИХОВА¹
Э. КУРШУБАДЗЕ²
Т.Н. РУДЕНКО²
О.А. ПРИХОДЬКО¹

¹⁾ *Сумский государственный университет, г. Сумы, Украина*

²⁾ *Харьковская медицинская академия последипломного образования, г. Харьков, Украина*

e-mail: nadezhda-sumy@mail.ru

Обследовано 33 больных с артериальной гипертензией при хронической болезни почек, определены изменения фосфолипидного спектра мембран и их динамика под влиянием гипотензивной терапии фозиноприлом и/или дилтиаземом. Наиболее выраженная перестройка мембран отмечена при сопутствующем нефротическом синдроме. О нарушении целостности мембран свидетельствует накопление в ее структуре лизоформ фосфолипидов, а также истощение базовых компонентов наружного и внутреннего слоев мембраны. Деструкцию клеточных мембран отражает компенсаторное накопление в них фракции фосфатидилхолина, как основного компонента наружного слоя биомембран. Выявленные нарушения структуры липидной части мембраны являются одним из факторов неминуемых механизмов прогрессирования хронического гломерулонефрита.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, артериальная гипертензия, фосфолипидный состав мембран, фозиноприл, дилтиазем.

Компонентами клеточных мембран являются фосфоинозитиды, обмен которых сопряжен с изменением внутриклеточной концентрации ионов кальция, а также с регуляцией статуса клетки к гормональным воздействиям и процессам клеточной пролиферации. Благодаря уникальной химической структуре, а именно значительному количеству функционально активных центров, они не только вовлечены в ряд физиологических процессов (регуляция энергетического обмена, участие в активном транспорте ионов, рецепторная функция), но и играют важную роль в активации иммунокомпетентных клеток, что может быть существенным в развитии процесса воспаления в почках [4]. Кроме того, фосфоинозитиды являются основными поставщиками арахидоновой кислоты, которая, как известно, является предшественником в синтезе простагландинов, влияющих на иммуноопосредованные процессы. Обмен фосфоинозитидов сопряжен с обменом и высвобождением ионов кальция внутри клеток. Нарастание концентрации кальция в цитоплазме влечет за собой активизацию процесса аккумуляции его в митохондриях, что является основной причиной разобщения клеточного дыхания и фосфорилирования, т.е. приводит к снижению синтеза АТФ, в тканях возникает энергодефицитное состояние, которое является дополнительным механизмом, способствующим прогрессированию хронической болезни почек [3, 5, 7, 8].

Изменения содержания инозитолфосфатов у больных хронической болезнью почек свидетельствует об усилении гидролиза фосфоинозитидов, что может приводить к нарушению проницаемости клеточных мембран и увеличению содержания в плазме крови инозитолфосфатов. Мембранная фракция фосфолипидов является наиболее значительной по количественному составу. Она обеспечивает заряд и форму клеток, осмотическую и термическую устойчивость, определенный уровень электрического сопротивления клеточных компонентов. Нарушение обмена фосфолипидов приводит к нарушению не только многих клеточно-молекулярных свойств, но и к изменению клеточной проницаемости за счет нарушения обновления фракции фосфолипидов [6]. Изучение липидного спектра мембран представляет несомненный интерес, так как структура мембранной части эритроцитов, несмотря на высокую специфичность клетки, отражает общие принципы повреждения биомембран, в том числе и при гломерулярной патологии.

Результаты современных исследований свидетельствуют об эффективности ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) по воздействию на сердечно-сосудистую летальность и заболеваемость (CAPPP, STOP-2). Доказательная медицина сегодня результаты шести достаточно масштабных многоцентровых рандомизированных исследований использования ингибиторов АПФ у пациентов с систолической дисфункцией левого желудочка, которые охватили более 13000 человек (CONSENSUS, VHeFTII, SOLVD Treatment and Prevention, SAVE, AIRE, TRACE). У больных, входивших в исследование EUCLID, продемонстрировано нефропротекторное действие ингибитора АПФ, который уменьшал проявления микроальбуминурии. Доказан ренопротекторный эффект ингибиторов АПФ, благодаря чему их применяют как препараты выбора у больных с поражением почек [1, 2].



Цель. Определить изменения фосфолипидного спектра мембран у больных с артериальной гипертензией при хронической болезни почек и их динамику под влиянием проводимой гипотензивной терапии.

Материалы и методы. Обследовано 33 больных с артериальной гипертензией (АГ) при хронической болезни почек (ХБП): хроническом гломерулонефрите (ГН), мужчин 21 (63,6%) и женщин 12 (36,4%). Контрольная группа составила 25 человек, мужчин 15 женщин и женщин 10 в возрасте 18-64 года. Из 33 больных ХБП у 14 диагностирована I стадия, 11 – II стадии, 8 – III стадии. Изучение фракционного состава инозитолфосфатов (ИФ) сыворотке крови проводили методом колоночной хроматографии с последующим фотокалориметрическим анализом фракций. Определяли уровни содержания общих липидов (ОЛ), фосфатидилсерина (ФС), сфингомиелина (СФМ), фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭА), лизофосфатидилхолина (ЛФХ) и фосфоинозитолфосфата (ФИ). Определение фракции фосфолипидов в мембранах проводили с использованием двухмерной тонкослойной хроматографии на силикагеле и рассчитывали по неорганическому фосфору с идентификацией по стандартным растворам и качественным показателям.

Больные были распределены на группы согласно назначенной терапии. Больным первой группы (n=17) был назначен фозиноприл в дозе 10-20 мг однократно, больным второй группы (n=16) была назначена комбинация: фозиноприл в дозе 10-20 мг в сутки однократно и дилтиазем в дозе 180 мг в сутки. Повторное обследование проводилось через 2 месяца лечения.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием статистического пакета Statistica 6.0 (Statsoft Inc.). Данные приведены в виде медианы 25 % и 75 % квартилей (Me[Me(n)-Me(v)]). Для оценки межгрупповых различий параметров с правильным распределением применяли параметрический t-критерий.

Результаты исследования и обсуждение. Исследование содержания фракций фосфолипидов показало, что основными направлениями их изменения было повышение содержания инозитолфосфатов 1 и 3. Гипотензивная терапия приводила к уменьшению содержания ИФ-1 и ИФ-3, и это снижение было выражено у больных ХБП в различной степени (табл. 1) и зависело от стадии ХБП.

Таблица 1

Влияние гипотензивной терапии фозиноприлом (Ф) и Ф+ДТ на показатели инозитолфосфатного спектра крови ($\mu\pm m$)

Показатели	После лечения		
	До лечения	Ф	Ф+ДТ
	ХБП I: ГН		
N	33	17	16
ИФ-1	148,6 \pm 7,3	137,0 \pm 4,5	128,6 \pm 3,5*
ИФ-2	106,0 \pm 4,7	101,0 \pm 2,0	99,0 \pm 2,8
ИФ-3	250,1 \pm 8,7	245,4 \pm 2,8	236,0 \pm 6,9
	ХБП II: ГН; АГ		
ИФ-1	158,0 \pm 3,4	141,0 \pm 4,5	134,0 \pm 5,2*
ИФ-2	130,1 \pm 5,8	121,0 \pm 2,8	110,0 \pm 2,7
ИФ-3	260,0 \pm 5,4	240,0 \pm 4,9	236,0 \pm 6,4
	ХБП III; АГ + НС		
ИФ-1	188,0 \pm 5,1	160,0 \pm 3,4*	170,0 \pm 5,9
ИФ-2	71,4 \pm 3,6	72,3 \pm 5,9	83,0 \pm 6,4
ИФ-3	285,4 \pm 11,8	238,0 \pm 7,2*	249,0 \pm 8,6
	ХБП III; АГ		
ИФ-1	182,0 \pm 7,3	146,0 \pm 4,4	150,0 \pm 4,3*
ИФ-2	164,0 \pm 7,6	142,0 \pm 3,4	140,1 \pm 3,4*
ИФ-3	192,0 \pm 10,4	188,0 \pm 4,6	107,0 \pm 8,3

Примечание: * $p < 0,01$ – достоверно по сравнению с показателем до лечения.

При ХБП I ст.: ГН исходный уровень ИФ-1 в крови был повышен и составлял (148,6 \pm 7,3) и через 2 месяца после начала терапии фозиноприлом составил (137,0 \pm 4,5) или уменьшился на 7,8% ($p < 0,08$). Более значительное уменьшение ИФ-1 имело место при лечении фозиноприлом и дилтиаземом (Ф+Дт) и составило (128,6 \pm 3,5) или на 13,5% ($p < 0,01$). Сравнительная оценка содержания ИФ-2 под влиянием лечения показала, что снижение ИФ-2 было незначительно и составляло у больных, леченных фозиноприлом всего 4,7% и Ф+Дт – 6,7%. В то же время, снижение ИФ-3 у больных, принимавших фозиноприл, составило 2% и при сочетании Ф+Дт – 6%.

У больных ХБП II: ГН, АГ было отмечено изменение содержания ИФ-1 и ИФ-3. Уровень ИФ-1, составляющий (158,0 \pm 3,4) до лечения под влиянием терапии фозиноприлом уменьшился до (141,0 \pm 4,5) или на 10,8%, а при лечении Ф+Дт до (134,0 \pm 5,2) или на 15,2% ($p < 0,01$).



У больных ХБП III: ГН, АГ исходный уровень ИФ-1 составлял (182,0±7,3) и после лечения Ф+Дт снизился до (150,0±4,3), что составило 17,6% (p<0,01). Исходный уровень ИФ-2 в этой категории больных составил (164,0±7,6) и снизился в группе больных принимающих фозиноприл до (142,0±3,4) или на 15,4% (p<0,01) и больных, принимавших Ф+Дт до (140,1±3,4) или на 15,6% (p<0,01). Уровень ИФ-3 был повышен до лечения и существенно не изменился после проводимой терапии.

Осложнение течения ХБП нефротическим синдромом (НС) характеризовалось высокими показателями содержания в плазме ИФ-1 и ИФ-3 до (188,0±5,1) и (285,4±11,8) соответственно. Лечение фозиноприлом приводило к уменьшению содержания в плазме крови ИФ-1 на 14,9% и ИФ-3 на 16,67% (p<0,01), в то время как содержание ИФ-1 и ИФ-3 при применении комбинированной терапии Ф+ДТ это снижение составило 9,6% и 13,1 %, т.е. существенно не отличалось по сравнению с группой больных, леченных фозиноприлом. Уровень ИФ-2 у больных, которых лечили фозиноприлом, существенно не изменился, а при терапии Ф+ДТ даже повысился на 16,2%.

Изменения фосфолипидного состава мембран тромбоцитов при ХБП I: ГН под влиянием лечения характеризовались следующим: общий уровень ОФЛ (0,92±0,1) мкг/мл уменьшился под влиянием лечения Ф до (0,88±0,03) мкг/мл и при сочетании Ф+Дт до (0,87±0,05) мкг/мл. Умеренное снижение содержания отмечено и для ФХ, в то время как существенно снизился уровень ЛФХ, ФСМ и повысился для ФИ, ФС и ФЭА (табл. 2).

Таблица 2

Показатели фосфолипидного состава мембран тромбоцитов на фоне проводимой терапии (μ±m)

Показатели	Лечение		
	До лечения	Ф	Ф+Дт
	ХБП I:ГН		
n	33	17	16
ОФЛ, мкг/мл	0,92±0,1	0,88±0,03	0,87±0,05
ЛФХ, % от ОФЛ	2,1±0,2	1,6±0,3	1,5±0,2
СФМ, % от ОФЛ	3,4±0,4	3,0±0,3	1,9±0,2
ФИ	1,4±0,4	2,0±0,3	4,2±0,05
ФХ	59,4±2,8	53,8±3,1	55,6±1,9
ФС	3,0±0,4	3,6±0,2	3,8±0,2
ФЭА	40,6±2,0	42,4±1,7	46,2±2,0
	ХБП II: ГН; АГ		
ОФЛ, мкг/мл	0,81±0,04	0,85±0,05	0,92±0,03
ЛФХ, % от ОФЛ	2,3±0,2	1,7±0,2	1,6±0,1
СФМ, % от ОФЛ	3,1±0,03	4,1±0,03	4,2±0,02
ФИ	1,2±0,07	1,5±0,20	1,7±0,10
ФХ	60,0±3,3	57,6±2,2	55,0±2,3
ФС	2,9±0,2	3,5±0,3	3,4±0,3
ФЭА	40,4±1,7	44,2±2,1	42,0±1,2
	ХБП III:ГН; АГ		
ОФЛ, мкг/мл	0,75±0,07	0,84±0,05	0,83±0,06
ЛФХ, % от ОФЛ	2,9±0,20	2,2±0,0	2,1±0,18
СФМ, % от ОФЛ	3,0±0,28	3,9±0,05	4,2±0,08
ФИ	1,1±0,18	1,8±0,16	2,0±0,14
ФХ	61,2±3,8	54,3±2,8	55,6±2,5
ФС	2,9±0,2	3,3±0,2	3,2±0,3
ФЭА	41,3±1,9	45,1±1,5	46,3±1,3
	ХБП: ГН; АГ+НС		
ОФЛ, мкг/мл	0,75±0,08	0,80±0,05	0,87±0,04
ЛФХ, % от ОФЛ	2,9±0,20	2,1±0,43	2,14±0,30
СФМ, % от ОФЛ	3,1±0,30	4,0±0,05	3,4±0,06
ФИ	1,0±0,18	1,5±0,17	1,4±0,15
ФХ	61,2±2,6	58,9±3,1	59,4±3,0
ФС	2,8±0,14	3,2±0,2	3,1±0,9
ФЭА	40,7±1,6	43,5±1,3	44,7±1,7

У больных ХБП II: ГН, АГ изменения фосфолипидного состава следующие. Под влиянием терапии Ф отмечено незначительное увеличение содержания ОФЛ до (0,85±0,05) мкг/мл и до (0,92±0,03) мкг/мл при лечении Ф+Дт, т.е. на 4,9% и на 13,6%. Спектр фосфолипидов изменялся следующим образом: отмечено существенное снижение ЛФХ с (2,3±0,2)% до (1,7±0,2)% при



лечения Ф и $(1,6 \pm 0,1)\%$ при сочетанном лечении Ф+Дт. Кроме того, имело место незначительное уменьшение ФХ до $(57,6 \pm 9,2)\%$ при лечении Ф и $(55,0 \pm 2,3)\%$ при использовании Ф+ДТ. Что касается остальных фракций фосфолипидов, то имело место увеличение СФМ на 32,3% ФИ – на 29%, ФС – на 20,6% и ФЭА – на 3,9%, у больных, принимавших Ф; СФМ – на 35,5%, ФИ – на 41,7%, ФС – на 17,2% и ФЭА – на 4% соответственно при приеме Ф+Дт.

Изменения фосфолипидного состава мембран тромбоцитов у больных ХБП III характеризовались увеличением содержания ОФЛ при лечении Ф и при сочетанном применении Ф+Дт как при АГ, так и АГ в сочетании с нефротическим синдромом. Так при исходном уровне ОФЛ $(0,75 \pm 0,07)$ мкг/мл содержание увеличилось при применении Ф у больных АГ до $(0,84 \pm 0,05)$ мкг/мл, а при лечении Ф+ДТ $(0,83 \pm 0,06)$ мкг/мл и $(0,87 \pm 0,04)$ мкг/мл соответственно, т.е. на 6,6% и 16%.

Что касается спектра фосфолипидов, то наблюдалось увеличение показателей СФМ, ФИ, ФС и ФЭА, в то время как содержание ЛФК и ФХ уменьшилось.

ФС и ФЭА являются базовыми компонентами внутреннего бислоя цитомембран. Таким образом, истощение в мембранах ФС и ФЭА приводит к перераспределению фосфолипидов на внутренних участках клеточных мембран, что способствует изменению структуры и функции мембраны. В ходе исследования выявлено накопление в мембранах тромбоцитов лизоформ ФХ. Наиболее выраженное повышение ЛФХ (в 2,05 раза) отмечалось при нефротическом синдроме. ЛФХ является продуктом деградации, основной фракции мембранных фосфолипидов, а именно фосфатидилхолина. Накопление ЛФХ в клеточных мембранах свидетельствует о дестабилизации их структуры и повышенной проницаемости. Накопление в мембранах ФХ носит скорее компенсаторный характер и свидетельствует о деструктивных процессах, протекающих в клетках. Результаты исследования демонстрируют, что в условиях хронического гломерулярного воспаления отмечаются характерные изменения со стороны клеточных мембран. Так, в мембранах тромбоцитов накапливаются лизоформы фосфолипидов, что указывает на усиление процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов и накопление биологически активных субстанций, которые обладают мембранодеструктивной активностью.

Выводы

1. У больных с артериальной гипертензией при хронической болезни почек выявлены однонаправленные изменения липидной части мембран тромбоцитов, которые заключаются в нарушении соотношения фосфолипидных фракций.

2. Наиболее выраженная перестройка мембран отмечена при сопутствующем нефротическом синдроме. О нарушении целостности мембран свидетельствует накопление в ее структуре лизоформ фосфолипидов, а также истощение базовых компонентов наружного и внутреннего слоев мембраны.

3. Деструкцию клеточных мембран отражает компенсаторное накопление в них фракции фосфатидилхолина, как основного компонента наружного слоя биомембран. Выявленные нарушения структуры липидной части мембраны являются одним из факторов неиммунных механизмов прогрессирования хронического гломерулонефрита.

4. Гипотензивная терапия как фозиноприлом, так и в комбинации с дилтиаземом, показала значительный нормализующий эффект на активность повреждающих механизмов и, как результат, на фосфолипидный спектр мембран.

Литература

1. Палій І. Артеріальна гіпертензія та метаболічний синдром, ускладнені патологією нирок: вибір гіпотензивного препарату / І. Палій, І. Шіфріс // Ліки України. – 2004. – №1. – С. 40-42.
2. Bernal J. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system in diastolic heart failure: potential for pharmacologic intervention / J. Bernal, S. R. Pitta, D. Thatai // Am. J. Cardiovasc. Drugs. – 2006. – Vol. 6, N 6. – P. 373-381.
3. Coll B. Cardiovascular risk factors underestimate atherosclerotic burden in chronic kidney disease : usefulness of non-invasive tests in cardiovascular assessment / B. Coll, A. Betriu, M. Martinez-Alonso [et al.] // Nephrol Dial Transplant. – 2010. – V. 20. – P. 3017-3025.
4. De Caterina D. Endothelial dysfunctions: common denominators in vascular disease / D. De Caterina // Cur. Opin Clin. Nutrition and Metabolic Care. – 2000.- Vol. 3.- P. 453-467.
5. McCullough P. A. Cardiovascular disease in chronic kidney disease from cardiologist's perspective / P. A. McCullough // Curr Opin Nephrol Hypertens. – 2004. – V. 13. – P. 591-600.
6. Nachman R. Platelets, Petechiae, and Preservation of the Vascular Wall / R. Nachman, S. Raffi // New Engl J Med. – 2008. – Vol. 359. – P. 1261-70.
7. Nobria A. Cardiorenal interactions: insights from the ESCAPE trial / A. Nobria, V. Hosselblad, A. Stebbins [et al.] // J. A. Coll. Cardiol. – 2008. – V. 51. – P. 1264-1268.
8. Sarnav M. J. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease : a statement from the American Heart Councils in kidney and cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical



Cardiology and Epidemiology and Prevention / M. J. Sarnav, A. S. Levey, Schoolwerth [et al.] // Circulation. – 2003. – V. 108. – P. 2154-2169.

CHANGE OF PHOSPHOLIPID MEMBRANE SPECTRUM DUE TO ANTIHYPERTENSIVE TREATMENT OF CHRONIC KIDNEY DISEASE

N.V. DEMIHOVA¹
E. KURSHUBADZE²
T.N. RUDENKO²
O.A. PRIHODKO¹

¹⁾ *The Sumy State University, Sumy, Ukraine*

²⁾ *Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine*

e-mail: nadezhda-sumy@mail.ru

The study involved 33 patients with arterial hypertension in patients with chronic kidney disease, the changes of membrane phospholipid spectrum and dynamics under the influence of antihypertensive therapy fosinopril and / or diltiazem were revealed. The most pronounced alteration of membranes is marked with associated nephrotic syndrome. Violation of the integrity of the membrane indicates accumulation in its structure of lizoform phospholipids, and depletion of the basic components of the outer and inner layers of the membrane. The degradation of cell membranes reflects a compensatory accumulation in these fractions of phosphatidylcholine, a major component of the outer layer of biomembranes. Identified violations of the structure of the lipid membranes are one of the non-immune mechanisms factors of chronic glomerulonephritis.

Keywords: chronic kidney disease, hypertension, membrane phospholipid composition, fosinopril, diltiazem.