

На правах рукописи

ЧУГУНОВА
Елена Владимировна

**ПАРАМЕТРЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО, КАРБОНИЛЬНОГО СТРЕССОВ
И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С РАННИМИ МАРКЕРАМИ ПОВРЕЖДЕНИЯ
ПОЧЕК У МУЖЧИН С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА**

3.3.3. Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Иркутск – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (г. Иркутск).

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
академик РАН, профессор

Колесникова Любовь Ильинична

Научный консультант:

доктор биологических наук,
профессор РАН

Даренская Марина Александровна

Официальные оппоненты:

Савченко Андрей Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, лаборатория клеточно-молекулярной физиологии и патологии НИИ медицинских проблем Севера – обособленного подразделения ФИЦ КНЦ СО РАН, руководитель

Серебрякова Ольга Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра госпитальной терапии и эндокринологии, заведующая

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____ 2022 года в ___ часов на заседании диссертационного совета 24.1.187.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» по адресу: 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» и на сайте <http://health-family.ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук



Гребенкина Людмила Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень её разработанности

В настоящее время во всех странах мира отмечается стремительный рост заболеваемости сахарным диабетом (СД), который принимает характер глобальной пандемии. Данные Международной диабетической ассоциации свидетельствуют о том, что примерно 537 млн человек взрослого населения мира страдают СД, и, согласно прогнозам, данная цифра к 2030 г. может возрасти до 643 млн, а к 2040 г. достичь 783 млн человек (IDF Atlas, 2021). Российская Федерация (РФ) входит в число стран-лидеров по СД. Истинная распространённость СД в РФ ориентировочно в 3–4 раза выше официальной (9–10 млн человек) (Дедов И. И. и др., 2019). Число больных сахарным диабетом 1 типа (СД 1 типа) в РФ составляет более 250 000 человек (Дедов И. И. и др., 2019).

Наиболее опасными проявлениями СД являются хронические сосудистые осложнения, которые являются причинами ранней инвалидизации и смертности пациентов (Дедов И. И. и др., 2018; Harding J. L. et al., 2019). Диабетическая нефропатия (ДН) – специфическое поражение почек, которое встречается у 20,1 % пациентов с СД 1 типа и у 6,3 % – с СД 2 типа (Шестакова М. В., 2016; Umanath K. et al., 2018). При ДН в тканях почек последовательно происходит ряд структурно-функциональных событий, включающих альбуминурию, гломерулярное рубцевание, тубулоинтерстициальный фиброз, прогрессирующее снижение функциональной активности почек вплоть до терминальной почечной недостаточности (Vasanth A. L. V. et al., 2019). Основным и единственным на сегодня методом диагностики ДН считается определение уровня альбуминурии и альбумин-креатининового соотношения (Дедов И. И. и др., 2018).

Особый акцент в настоящее время ставится на исследовании патогенетических механизмов развития нарушений на доклинических стадиях ДН, которые не только позволят рано диагностировать данное диабетическое осложнение, но и помогут установить ранние биомаркеры первичных поражений почек (Лебедева Н. О. и др., 2012; Щукина А. А. и др., 2015; Lioudaki E. et al., 2015). На текущий момент выделены основные группы ранних потенциальных почечных маркеров, в том числе тубулярные маркеры, маркеры повреждения подоцитов, факторы роста и т. д., позволяющих прогнозировать развитие ДН с высокой специфичностью и чувствительностью (Лебедева Н. О. и др., 2012; Щукина А. А. и др., 2015).

Однозначно признано, что митохондриальная дисфункция способствует развитию и прогрессированию ДН (Sanchez M. et al., 2018). Митохондрии, как известно, являются основными поставщиками активных форм кислорода (АФК), повышенное накопление которых приводит к развитию окислительного стресса (ОС) (Vodošek Hojs N. et al., 2020). Взаимодействие АФК с клеточными компонентами – липидами, белками и ДНК – в конечном итоге приводит к их модификации, и данные изменения могут сохраняться в течение длительного времени, даже после нормализации уровня глюкозы в крови (Колесникова Л. И. и др., 2017; Ларина И. И. и др., 2019). Данный феномен лежит в основе так называемого механизма «метаболической памяти», основу которого составляют конечные продукты гликирования (КПГ) – так называемый карбонильный стресс (Губский Ю. И., 2015; Черников А. А. и др., 2017) КПГ накапливаются и сохраняются в сосудах в течение длительного временного периода, что в совокупности с дополнительными патогенетическими механизмами повреждения приводит к развитию серьёзных дисрегуляторных процессов в почках (Ларина И. И. и др., 2019). Окислительные повреждения биосубстратов клетки способствуют развитию эндогенной интоксикации организма (Давыдов В. В., Божков А. И., 2014; Mistry K. N. et al., 2020).

Современная антиоксидантная терапия представлена различными препаратами (препараты α -липоевой кислоты (α -ЛК), α -токоферола, витамина С, селена и др.), которые широко применяются для лечения не только сахарного диабета, но и других системных заболеваний (Ceriello A. et al., 2016; Darenskaya M. A. et al., 2021). Доказано, что α -ЛК – это

мощный естественный антиоксидант широкого спектра действия (Agathos E. et al., 2018). Её способность к нейтрализации свободных радикалов многократно подтверждена экспериментальными и клиническими исследованиями (Mendoza-Núñez V. M. et al., 2019).

Несмотря на многочисленные исследования, до сих пор недостаточно знаний об активности реакций окислительного и карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и их взаимосвязях с маркерами почечного повреждения на доклинических стадиях диабетической нефропатии. Крайне недостаточно исследований указанных параметров у больных с СД при проведении терапии препаратами с антиоксидантными свойствами. Очевидно, что изучение взаимодействия параметров окислительного повреждения биосубстратов и изменения уровня ранних маркеров почечного повреждения позволит своевременно выявлять ДН и повысить эффективность назначаемой нефропротективной терапии.

Развитие СД 1 типа у лиц молодого репродуктивного возраста, в частности в мужской популяции, повышает значимость проблемы профилактики и лечения его осложнений в связи с высоким риском нарушений репродуктивного здоровья, в связи с чем данная когорта пациентов представляет особый интерес.

В связи с вышеизложенным **целью исследования** явилось выявить закономерности изменений показателей окислительного, карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и их взаимосвязь с уровнем почечных маркеров – подокаликсина и β 2-микроглобулина – у мужчин с сахарным диабетом 1 типа для разработки способов раннего прогнозирования и коррекции диабетической нефропатии.

Для решения поставленной цели последовательно решались следующие **задачи**:

1. Оценить интенсивность окислительного, карбонильного стрессов и эндогенной интоксикации у мужчин с сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии.

2. Установить особенности изменений уровня ранних маркеров почечного повреждения – подокаликсина и β 2-микроглобулина – у мужчин с сахарным диабетом 1 типа в зависимости от функционального состояния почек.

3. Определить характер взаимосвязей исследуемых показателей с уровнем ранних почечных маркеров у мужчин с сахарным диабетом 1 типа и доклиническими стадиями нефропатии.

4. Установить наиболее информативные показатели окислительного, карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и маркеров почечного повреждения у мужчин с сахарным диабетом 1 типа для раннего прогнозирования развития диабетической нефропатии.

5. Выявить изменения в показателях окислительного и карбонильного стрессов, а также эндогенной интоксикации у мужчин с сахарным диабетом 1 типа при проведении терапии препаратом с антиоксидантными свойствами.

Научная новизна

Впервые проведена комплексная оценка активности реакций окислительного и карбонильного стрессов на основе анализа показателей повреждения липидов, белков, ДНК, ферментативных и неферментативных компонентов антиоксидантной защиты (АОЗ) у мужчин, больных СД 1 типа, на доклинических стадиях диабетической нефропатии.

Выявлено, что у пациентов с СД 1 типа вне зависимости от стадии альбуминурии (стадии А1, А2) регистрируются окислительные повреждения основных структурных компонентов клеток – липидов (повышенные уровни первичных и вторичных продуктов липопероксидации на стадиях А1 и А2), белков (повышенные уровни метилглиоксаля на стадиях А1 и А2) и ДНК (более высокий уровень 8-гидрокси-2-деоксигуанозина на стадии А2). Уровень эндогенной интоксикации (фракции среднемoleкулярных пептидов 238, 254) у мужчин с СД 1 типа характеризуется повышенными значениями в обеих группах.

Получены новые данные о разнонаправленной активности антиоксидантных факторов у пациентов с СД 1 типа на стадиях А1 (повышенные значения ретинола; сниженные –

общей антиокислительной активности, α -токоферола, активности глутатионпероксидазы) и А2 (повышенные значения ретинола, восстановленного и окисленного глутатионов, активности глутатионредуктазы; сниженные – α -токоферола), свидетельствующие о различной реактивности звеньев антиоксидантной защиты в условиях манифестации диабетической нефропатии.

Впервые проведена оценка сравнения информативности ранних неинвазивных маркеров гломерулярного (подокаликсин), тубулоинтерстициального (β 2-микроглобулин) повреждения почек со стандартными диагностическими тестами (альбуминурия, соотношение альбумин/креатинин в моче), установившая наибольшую чувствительность и специфичность подокаликсина по сравнению с классическими маркерами.

Впервые исследованы взаимосвязи показателей окислительного, карбонильного стрессов и эндогенной интоксикации с уровнем ранних маркеров повреждения почек (подокаликсина, β 2-микроглобулина) у больных сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии, заключающиеся в наличии тесных взаимодействий подокаликсина с показателями деструкции ДНК, эндогенной интоксикации и восстановленного глутатиона в группе пациентов со стадией А1 и отсутствии данных зависимостей при стадии А2.

Установлено, что добавление к комплексной терапии препарата с антиоксидантными свойствами (α -липоевая кислота) способствует снижению значений среднемoleкулярных пептидов, росту показателей общей антиокислительной активности крови, глутатион-S-трансферазы, активности глутатионредуктазы в группе А1 и снижению концентрации диеновых конъюгатов, восстановленной и окисленной форм глутатиона в группе А2 относительно данных до лечения.

Разработана концептуальная схема изменений показателей окислительного, карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и их взаимосвязей с ранними почечными маркерами у мужчин с СД 1 типа и начальными проявлениями нефропатии.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные результаты позволяют расширить фундаментальные представления о патогенетических механизмах формирования диабетической нефропатии у мужчин репродуктивного возраста.

Вследствие патогенетической значимости окислительных повреждений липидов, белков, ДНК, а также раннего почечного маркера – подокаликсина – в генезе доклинических проявлений диабетической нефропатии необходимо проведение своевременной диагностики указанных изменений и назначение соответствующих препаратов с антиоксидантными свойствами.

На основе полученных данных могут быть созданы методические рекомендации для использования в практическом здравоохранении, направленные на раннее выявление поражения почек у данной когорты больных, с дальнейшей возможностью своевременного назначения нефропротективной терапии, что позволит предотвратить прогрессирование данного заболевания.

Результаты могут быть также использованы учебном процессе кафедр эндокринологии, патологической физиологии, нормальной физиологии медицинских вузов, профильных кафедр биологических вузов, а также в программах подготовки аспирантов и соискателей, прикрепленных к научно-исследовательским учреждениям.

Исследовательская работа проводилась в рамках тематических планов НИР ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»: фундаментальное научное исследование № 121022500180-6 «Патофизиологические механизмы и генетико-метаболические предикторы сохранения репродуктивного здоровья и долголетия в различных возрастных, гендерных и этнических группах»; поисковое научное исследование АААА-А20-120120790034-9 «Поиск новых биохимических маркеров доклинической диагностики микрососудистых осложнений у больных сахарным диабетом».

Методология и методы исследования

При обследовании пациентов с СД 1 типа была проведена комплексная оценка клинических и лабораторных данных. В работе использованы спектрофотометрические (определение уровня продуктов липопероксидации, параметров антиоксидантной защиты, среднемолекулярных пептидов), спектрофлуорометрические (определение концентрации продуктов липопероксидации, параметров антиоксидантной защиты), иммуноферментные (определение параметров антиоксидантной защиты, 8-ОН-2-деоксигуанозина (8-ОНdG), метилглиоксаля (МГ), подокаликсина, β 2-микроглобулина). Указанные методы были применены при обследовании 69 мужчин с сахарным диабетом 1 типа и доклиническими стадиями нефропатии, а также 28 практически здоровых мужчин контрольной группы.

Положения, выносимые на защиту:

1. У мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, изменения показателей окислительного и карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и недостаточности факторов антиоксидантной защиты проявляются уже на ранней стадии диабетической нефропатии – А1. Интенсивность данных изменений коррелирует со стадиями развития диабетической нефропатии, определёнными стандартными диагностическими тестами.

2. Определение подокаликсина в моче обладает высокой чувствительностью и специфичностью по сравнению со стандартными тестами на альбуминурию, что указывает на его большую значимость при диагностике диабетической нефропатии.

3. Наиболее информативные показатели окислительного повреждения липидов (диеновые конъюгаты, окисленный глутатион), белков (метилглиоксаль), ДНК (8-ОН-2-деоксигуанозин) и эндогенной интоксикации (среднемолекулярные пептиды фракции 254) могут являться дополнительными критериями отнесения мужчин с сахарным диабетом 1 типа к группе риска развития начальных проявлений диабетической нефропатии и обосновать соответствующие подходы к оптимизации тактики профилактических мероприятий.

4. Назначение антиоксидантной терапии (α -липоевая кислота) пациентам с сахарным диабетом 1 типа обеспечивает снижение значений показателей эндогенной интоксикации, рост уровня общей антиоксидантной активности крови, глутатионзависимых ферментов на стадии А1 и снижение концентрации первичных продуктов липопероксидации, восстановленной и окисленной форм глутатиона на стадии А2.

Степень достоверности и апробация результатов

Подтверждением достоверности полученных результатов являются достаточный объём наблюдений, выполненных с использованием современных лабораторных методов исследования, сертифицированного оборудования и реактивов. Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакета современных статистических компьютерных программ.

Основные результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на: 86-й Всероссийской Байкальской научно-практической конференции молодых учёных и студентов с международным участием, посвящённой 100-летию ИГМУ «Актуальные вопросы современной медицины» (Иркутск, апрель 2019 г.); 12th International Conference on Advanced Technologies & Treatments for Diabetes (Берлин, Германия, 20–23 февраля 2019 г.); 13th International Conference on Advanced Technologies & Treatments for Diabetes (Мадрид, Испания, 19–22 февраля 2020 г.); IV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, октябрь 2020 г.); 14th International Conference on Advanced Technologies & Treatments for Diabetes (2–5 июня 2021 г.); 2nd Online

International Conference on Diabetes and Endocrinology (29 ноября 2021 г.); The Society for Redox Biology and Medicine's 28th Annual Conference (15–18 ноября 2021 г.); VII Всероссийской научно-практической конференции «Молодые учёные России» (Пенза, июнь 2021 г.); 15th International Conference on Advanced Technologies & Treatments for Diabetes (Барселона, Испания, 27–30 апреля 2022 г.).

Личное участие автора

Личный вклад автора состоит в наборе и обследовании пациентов, проведении информационно-патентного поиска, получении исходных данных, статистической обработке и интерпретации полученных данных, апробации результатов исследования на конференциях различного уровня, подготовке публикаций по выполненной работе и оформлении текста диссертации.

Внедрение результатов исследования в практику

Материалы диссертации внедрены в образовательный процесс кафедр эндокринологии, клинической фармакологии и иммунологии, патологической физиологии и клинической лабораторной диагностики, нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России; кафедры физиологии и психофизиологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет»; в практическое здравоохранение (ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак Почёта» областная клиническая больница»).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 13 печатных работ, из них 11 – в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ, из которых 10 работ – в рецензируемых изданиях, индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus.

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа изложена на 125 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы с результатами собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы (74 отечественных и 152 иностранных источника). Текст работы иллюстрирован 15 таблицами и 17 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Работа выполнена в период с 2018 по 2021 г. на базе ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ) (директор – д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН Л. В. Рычкова) в лаборатории патофизиологии (руководитель – д.б.н., профессор РАН М. А. Даренская), в рамках государственной темы «Патофизиологические механизмы и генетико-метаболические предикторы сохранения репродуктивного здоровья и долголетия в различных возрастных, гендерных и этнических группах» (руководитель темы – д.м.н., профессор, академик РАН Л. И. Колесникова). Клиническое обследование пациентов проводилось в эндокринологическом отделении ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак Почёта» областная клиническая больница» (ГБУЗ ИОКБ) (главный врач – к.м.н. П. Е. Дудин).

Методом сплошной выборки из числа пациентов с СД 1 типа, направленных на плановую госпитализацию в ГБУЗ ИОКБ, были обследованы 69 мужчин молодого репродуктивного возраста, от 18 до 40 лет (средний возраст – $31,73 \pm 2,59$ года), с СД 1 типа и неудовлетворительным гликемическим профилем (основная группа). Контрольную группу

составили 28 практически здоровых мужчин того же возраста (средний возраст – $29,71 \pm 4,59$ года) (контрольная группа).

При обследовании больных была проведена комплексная оценка клинических и лабораторных данных. Комплексное медицинское обследование пациентов с СД 1 типа проводилось согласно классификации СД (Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), 1999), диагностическим критериям СД (ВОЗ, 1999–2018), алгоритмам специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом.

В соответствии с классификацией (Дедов И. И. и др., 2019), основная группа была разделена на две подгруппы: пациенты с альбуминурией, соответствующей критериям стадии А1 – альбумин в моче менее 30 мг/сут., альбумин/креатининовое соотношение менее 3 мг/ммоль ($n = 35$), и пациенты с альбуминурией, соответствующей критериям стадии А2 – альбумин в моче 30–300 мг/сут., альбумин/креатининовое соотношение 3–30 мг/ммоль ($n = 34$). Далее было проведено лечение препаратом с антиоксидантными свойствами как в первой, так и во второй подгруппах пациентов.

Все пациенты находись на базис-болюсной инсулинотерапии с использованием аналогов человеческих инсулинов длительного и ультракороткого действия. Схемы (дозы) подбирались каждому пациенту индивидуально. Для антиоксидантного лечения использовался препарат α -липоевой кислоты (Sol. Ac. Thiocitici 600,0 + Sol. NaCl 200,0 внутривенно, после завтрака, на протяжении 10 дней). При повторном обследовании после проведённого лечения оценивали динамику изучаемых показателей.

Критерии включения в основную группу: мужской пол; возраст 18–40 лет; информированное согласие пациента на участие в исследовании; проживание на территории Иркутской области; верифицированный диагноз сахарного диабета 1 типа; уровень скорости клубочковой фильтрации – $60 \text{ мл/мин/1,73 м}^2$ и более.

Критерии исключения из основной группы: женский пол; сахарный диабет 2-го типа или другие типы сахарного диабета; наличие тяжёлых осложнений сахарного диабета (протеинурия, почечная недостаточность, макрососудистые осложнения); наличие других эндокринных заболеваний; наличие выраженной сопутствующей соматической патологии; первичные поражения почек (инфекционные, сосудистые, токсические, иммуновоспалительные, опухолевые).

Критерии включения в контрольную группу: мужской пол; возраст 18–40 лет; нормальный уровень гликемии; отсутствие наследственной предрасположенности к СД.

Критерии исключения из контрольной группы: наличие на момент обследования острых или обострение хронических заболеваний.

В работе с больными соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике при ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (выписка из протокола заседания № 8.2 от 2.11.2018). Получение информированного согласия на участие в проводимом исследовании являлось обязательной процедурой.

Клинико-anamnestическая характеристика больных с СД 1 типа

Пациенты исследуемых групп были сопоставимы по возрасту, длительности СД, индексу массы тела (ИМТ), уровню гликированного гемоглобина; при этом имелись статистически значимые различия в отношении показателя среднесуточной гликемии (в группе А2 выше, чем в группе А1; $p = 0,02$). Статистически значимые различия также были зафиксированы в отношении биохимических показателей крови: более низкие уровни креатинина крови в группах А1 ($p < 0,0001$) и А2 ($p < 0,0001$), общего белка – в группе А1 ($p = 0,001$) относительно контроля; более высокие концентрации альбумина в группе А2 относительно группы А1 ($p < 0,0001$). В группе А1 отмечался рост показателя скорости клубочковой фильтрации (СКФ) в сравнении с контролем ($p < 0,0001$). В группе А2 закономерно были зафиксированы более высокие уровни альбумина мочи ($p < 0,0001$)

и соотношения альбумин/креатинин в моче сравнении с контролем ($p < 0,0001$). Межгрупповые отличия характеризовались более высокими значениями альбумина в моче ($p < 0,0001$), соотношения альбумин/креатинин в моче ($p < 0,0001$) и сниженной СКФ ($p = 0,024$) у пациентов группы А2 в сравнении с группой А1. В обеих группах были зафиксированы более высокие уровни триацилглицеридов (ТАГ) ($p = 0,007$ и $p = 0,022$ в группах А1 и А2 соответственно) и холестерина липопротеидов очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП) ($p = 0,007$ и $p = 0,022$ в группах А1 и А2 соответственно). Группа А2 отличалась от контрольных значений более высокими значениями общего холестерина (ОХС) ($p = 0,001$). В отношении остальных показателей статистически значимых различий в исследуемых группах выявлено не было ($p > 0,05$).

Для решения поставленных задач использовались: анализ медицинской документации; общеклинические методы исследования; лабораторные; статистические методы исследования.

Анализ медицинской документации. Проведён анализ данных медицинских карт стационарного больного (форма № 003, утверждённая Приказом Минздрава СССР № 1030 от 14.10.1980) отделения эндокринологии ГБУЗ ИОКБ.

Общеклинические методы исследования. Объективный осмотр включал оценку физического развития, измерение роста и веса, расчёт ИМТ, предложенный G. Vrey (отношение массы тела в килограммах к длине тела в метрах, возведённой в квадрат); измерение артериального давления, температуры тела. Проводилась оценка наличия или отсутствия трофических кожных проявлений.

Лабораторные методы исследования. В качестве материала для лабораторных исследований использовали сыворотку, плазму крови и гемолизат, приготовленный из эритроцитов. Взятие крови совершалось с помощью одноразовых вакуумных систем из локтевой вены, после 15-минутного отдыха, натощак, с 8 до 9 часов утра. Сыворотку и плазму крови для исследований получали путём центрифугирования пробирок при 3000 об./мин в течение 10 минут. Полученный биоматериал хранился в одноразовых пробирках типа Eppendorf в морозильной камере при температуре -80°C . Размораживание образцов при необходимости производили не более одного раза. Уровень гликозилированного гемоглобина (HbA1c) определялся на анализаторе D-10 (Bio-Rad, США) с использованием жидкостной ионообменной высокоэффективной хроматографии. Глюкоза капиллярной крови определялась с помощью глюкозооксидазного метода. Анализировался гликемический профиль (глюкоза крови – натощак; постпрандиальный уровень глюкозы – через 2 часа после еды). Использованы методы оценки ранних повреждений почек (расчёт СКФ, определение содержания альбумина, соотношения альбумина и креатинина в моче). Содержание креатинина и альбумина в моче, соотношение альбумина к креатинину в моче определялось на биохимическом анализаторе SYNCHRON CX9 PRO (Beckman Coulter, США) иммунотурбидиметрическим методом. СКФ рассчитывалась по формуле СКД-ЕРІ (мл/мин/1,73 м²). Содержание ОХС, холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП) и ТАГ в сыворотке крови определяли с использованием коммерческих наборов «Bio Systems» (Испания). Измерения производили на биохимическом анализаторе SYNCHRON CX9 PRO (Beckman Coulter, США). Уровень ХС-ЛПОНП вычисляли с помощью формулы: ХС-ЛПОНП = ТАГ / 2,2. Уровень холестерина липопротеидов низкой плотности: ХС-ЛПНП = ОХС – (ХС-ЛПВП + ХС-ЛПОНП).

Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию первичных (диеновых конъюгатов (ДК)) и вторичных (кетодиенов и сопряжённых триенов (КД и СТ)) продуктов по методу И. А. Волчегорского (1989). Содержание конечных ТБК-активных продуктов (ТБК-АП) определяли с помощью коммерческих наборов ТБК-АГАТ (Россия). Оценку значений среднемoleкулярных пептидов (СМП 238, СМП 254, СМП 280) проводили с помощью метода В. Б. Гаврилова и соавт. (1999). Измерения производили на спектрофотометре СФ-2000 (Россия). Определение 8-OHdG с использованием набора Assay Designs DNA Damage ELISA Kit

(США) и МГ с использованием набора Human Methylglyoxal ELISA Kit (США) проводилось иммуноферментным методом. Определение концентрации глутатион-S-трансферазы выполняли иммуноферментным методом с использованием набора реактивов Immundiagnostik (Германия). Уровень подокаликсина в моче определяли с помощью коммерческого набора Podocalyxin ELISA Kit (США); уровень β 2-микроглобулина в моче с помощью коммерческого набора «Beta-2-Microglobulin» (БиоХимМак, Россия) определяли иммуноферментным методом. Измерения осуществляли на иммуноферментном анализаторе ELx808 (Bio-Tek, США). Оценку общей антиокислительной активности (АОА), активность глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГПО) проводили с использованием коммерческих наборов RANSOD (Randox, Великобритания). Измерения проводили на спектрофлуорофотометре BTS-350 (Испания). Определение концентраций α -токоферола и ретинола по методу Р. Ч. Черняускене с соавт. (1984), восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) глутатионов по методу Р. У. Ниссин и R. Hilf (1976) проводили флуориметрическим методом на флюорате 02 (АБФФ-Т, Россия). Для комплексной оценки состояния системы ПОЛ–АОЗ проводили расчёт интегрального коэффициента окислительного стресса (КОС) по соотношению про- и антиоксидантных факторов (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2011617323).

При оценке результатов исследований использована интегрированная система для комплексного статистического анализа и обработки данных в программе Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Проверку нормальности распределения количественных признаков осуществляли с помощью визуально-графического метода и критериев согласия Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро – Уилка. Проверка равенства генеральных дисперсий осуществлялась с помощью критерия Фишера (F-test). Количественное сравнение двух независимых выборок осуществлялось с использованием непараметрического U-критерия Манна – Уитни, для количественного сравнения трёх и более независимых выборок использовался дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса. Для исследования взаимосвязи между признаками использовался ранговый корреляционный анализ Спирмена. Диагностическая точность почечных биомаркеров оценивалась с помощью ROC-анализа характеристических кривых. Оценивались классические индексы диагностических целей: площадь под характеристической кривой (AUC, area under curve), чувствительность, специфичность. Оценка качества модели проводилась в соответствии с экспертной шкалой для значений AUC. Кроме того, для анализа наиболее значимых биохимических параметров, ассоциированных с ранними проявлениями диабетической нефропатии, был использован многофакторный дискриминантный анализ. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Интенсивность окислительного, карбонильного стрессов и уровня компонентов эндогенной интоксикации у мужчин с сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии

При сравнении параметров процесса липопероксидации выявлены статистически значимые различия в отношении содержания ДК, КД и СТ, ТБК-АП в группах А1 и А2 в сравнении с контролем. Так, значения ДК (Рисунок 1а) у пациентов с СД 1 типа групп А1 ($p = 0,003$) и А2 ($p < 0,0001$) были выше показателя контрольной группы. Значения КД и СТ (Рисунок 1б) также были выше в группах А1 ($p = 0,019$) и А2 ($p < 0,0001$) относительно контроля. При этом в группах А1 ($p = 0,023$) и А2 ($p = 0,023$) были зафиксированы более низкие значения ТБК-АП (Рисунок 1в) в сравнении с контролем. При сравнении вышеприведённых параметров между группами А1 и А2 была выявлена статистически

значимая разница по уровню первичных продуктов ПОЛ. Уровень ДК в группе А2 был выше ($p = 0,011$) относительно данных группы А1.

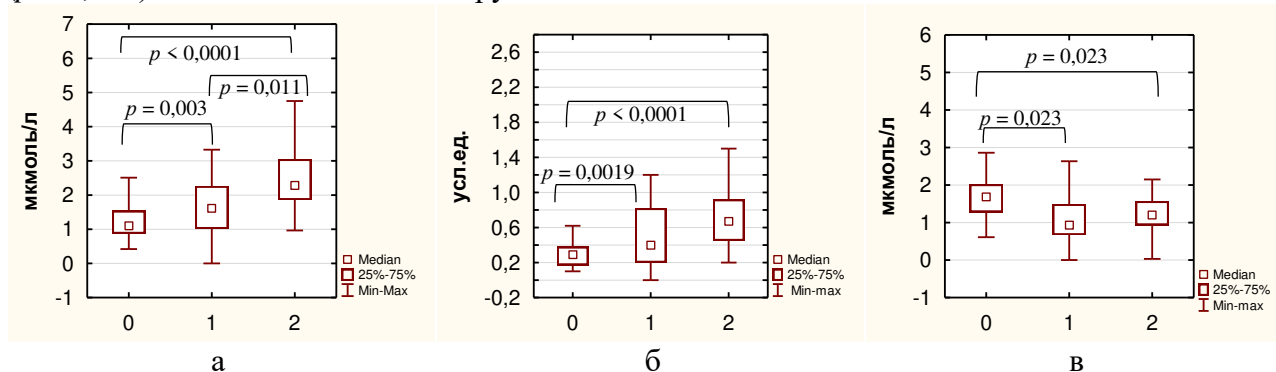


Рисунок 1 – Уровень продуктов липопероксидации (а – ДК; б – КТ и СТ; в – ТБК-АП) у мужчин с СД 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии: p – статистически значимые различия между группами; здесь и далее: 0 – контрольная группа; 1 – группа А1; 2 – группа А2

При сравнении значений 8-ОН-2-деоксигуанозина в группах больных СД 1 типа были выявлены статистически значимо более высокие значения данного показателя в группе А2 в сравнении с контролем ($p = 0,010$). Сравнение результатов между группами А1 и А2 показало повышенные значения 8-ОНдГ ($p = 0,010$) у пациентов группы А2 (Рисунок 2а). Концентрация МГ в обеих группах была выше контрольных параметров в группах А1 ($p < 0,001$) и А2 ($p < 0,001$) (Рисунок 2б).

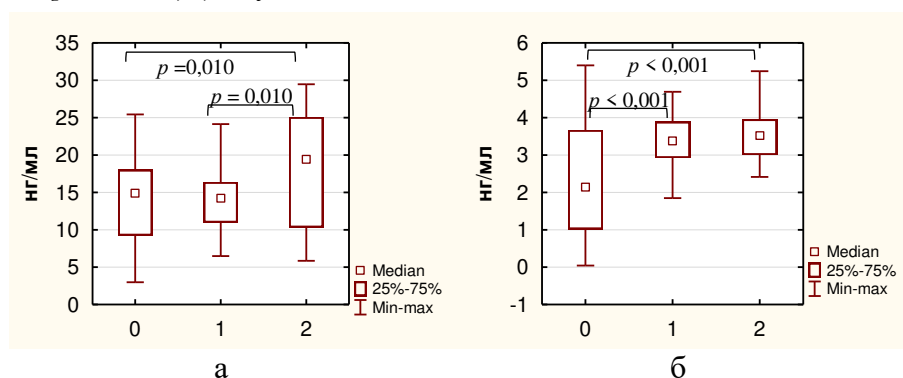


Рисунок 2 – Показатели 8-ОН-2-деоксигуанозина (а) и метилглиоксала (б) у мужчин с СД 1 типа: p – статистически значимые различия между группами

Анализ состояния системы АОЗ у пациентов исследуемых групп показал статистически значимое снижение уровня общей АОА (Рисунок 3а) в группе А1 ($p = 0,011$) относительно контроля. Концентрация α -токоферола (Рисунок 3б) отмечала более низкие значения как в группе А1 ($p = 0,009$), так и в группе А2 ($p = 0,033$). Уровень ретинола (Рисунок 3в) возрастал в группах А1 ($p < 0,001$) и А2 ($p = 0,005$) в сравнении с контрольными показателями.

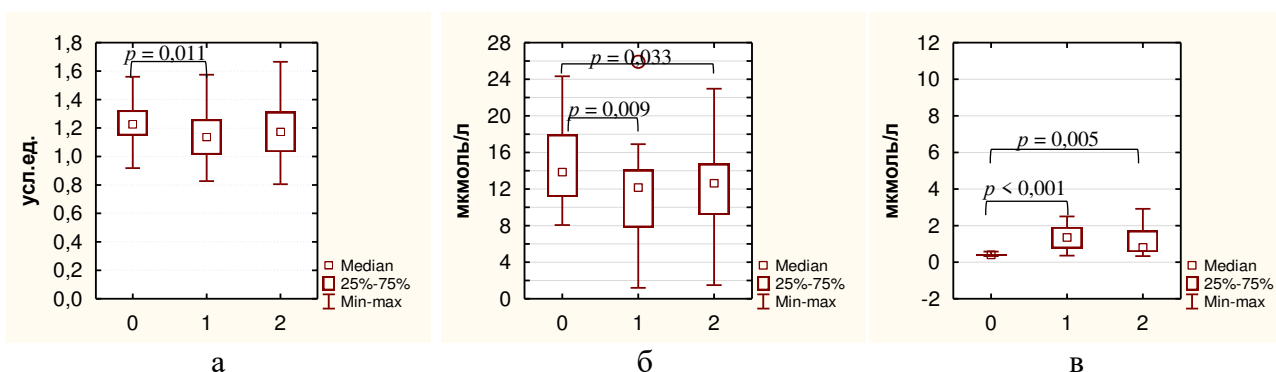


Рисунок 3 – Параметры системы АОЗ (а – общая антиокислительная активность; б – токоферол; в – ретинол) у мужчин с СД 1 типа: p – статистически значимые различия между группами

Показатели системы глутатиона в группе А1 обнаруживали статистически значимые различия в активности глутатионпероксидазы (Рисунок 4а) – она была ниже ($p = 0,0003$) относительно контроля. В группе А2, в отличие от значений контрольной группы, были выше показатели глутатионредуктазы ($p < 0,001$) (Рисунок 4б), GSH ($p = 0,010$) (Рисунок 4в) и GSSG ($p < 0,0001$) (Рисунок 4г).

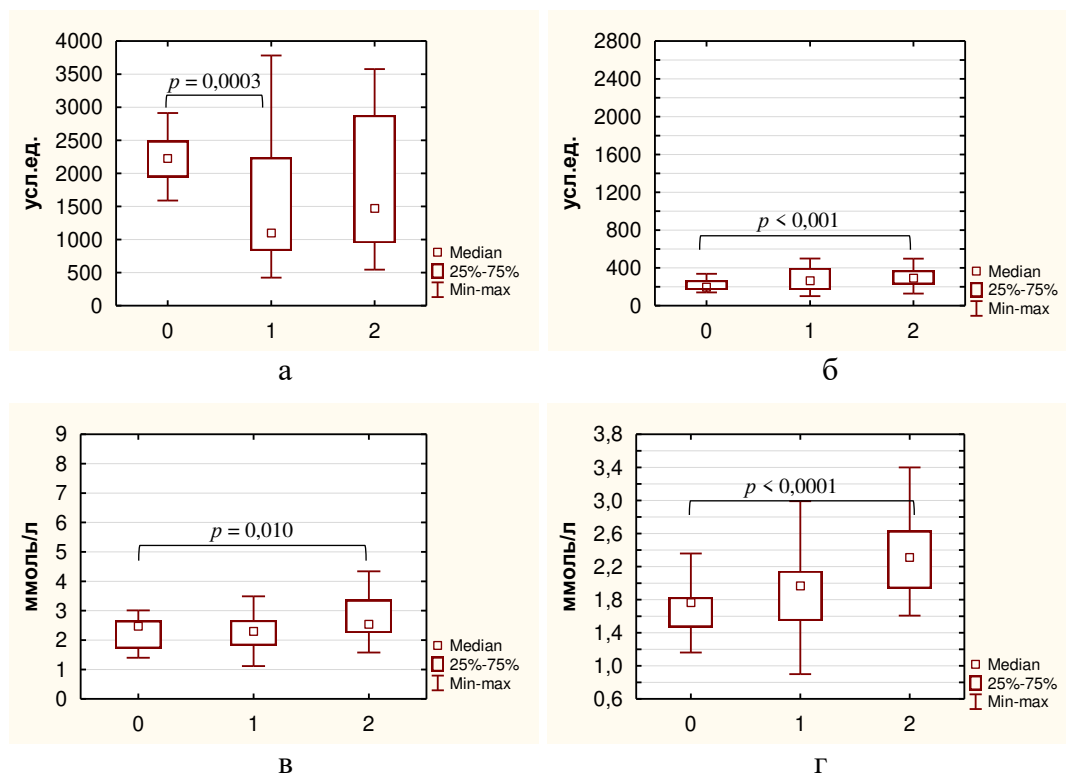
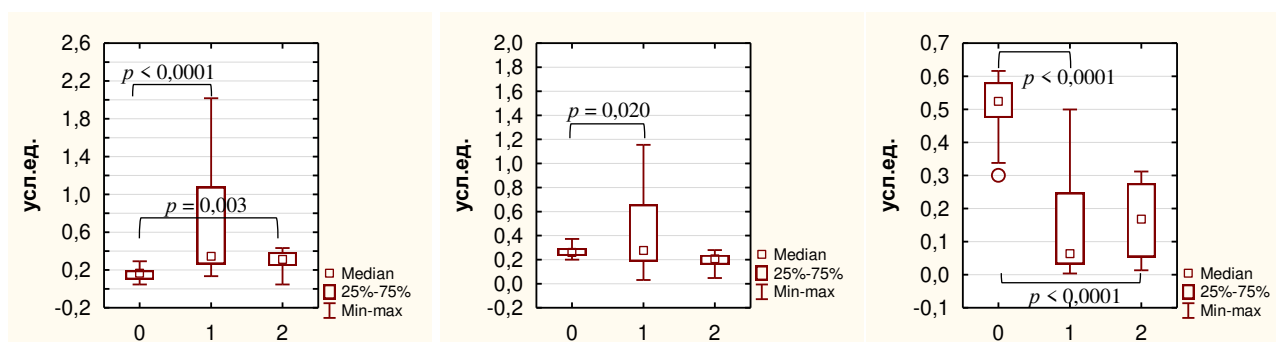


Рисунок 4 – Показатели системы глутатиона (а – активность ГПО; б – активность ГР; в – GSH; г – GSSG) у мужчин с СД 1 типа: p – статистически значимые различия между группами

Интегральный КОС, представляющий собой отношение концентрации продуктов ПОЛ к факторам антиоксидантной защиты, в обеих группах не отличался от контрольных значений ($p > 0,05$). Межгрупповых различий также выявлено не было ($p > 0,05$), хотя тенденция к нарастанию данного параметра имелась в группе А2.

Также нами был проведён анализ показателей эндогенной интоксикации – СМП. Были зарегистрированы повышенные значения СМП 238 (Рисунок 5а) ($p < 0,0001$), СМП 254 (Рисунок 5б) ($p = 0,020$) и сниженные уровни СМП 280 (Рисунок 5в) ($p < 0,0001$) в группе А1 относительно контроля. В группе А2 были зафиксированы повышенные значения СМП 238 ($p = 0,003$) и сниженные уровни СМП 280 ($p < 0,0001$) относительно контроля.



а

б

в

Рисунок 5 – Уровень молекул средней массы (а – СМП 238; б – СМП 254; в – СМП 280) у мужчин с СД 1 типа: p – статистически значимые различия между группами

Таким образом, было выявлено, что у пациентов с СД 1 типа вне зависимости от стадии альбуминурии (А1 или А2) регистрируются окислительные повреждения основных структурных компонентов клеток, интенсификация процессов эндогенной интоксикации и разнонаправленные изменения в системе АОЗ, свидетельствующие о различной реактивности звеньев антиоксидантной защиты в условиях манифестации диабетической нефропатии. Особого внимания при этом заслуживает группа А1, демонстрирующая многообразие метаболических реакций.

Оценка параметров почечного повреждения у мужчин с сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии

В нашем исследовании использованы два типа почечных маркеров – подокаликсин (Рисунок 6а) и $\beta 2$ -микроглобулин (Рисунок 6б), характеризующие, соответственно, гломерулярные и тубулоинтерстициальные изменения почечных структур. Были установлены более высокие значения подокаликсина в обеих группах относительно контрольных параметров ($p = 0,003$ и $p = 0,004$ в группах А1 и А2 соответственно). Статистически значимых различий в отношении $\beta 2$ -микроглобулина выявлено не было ($p > 0,05$).

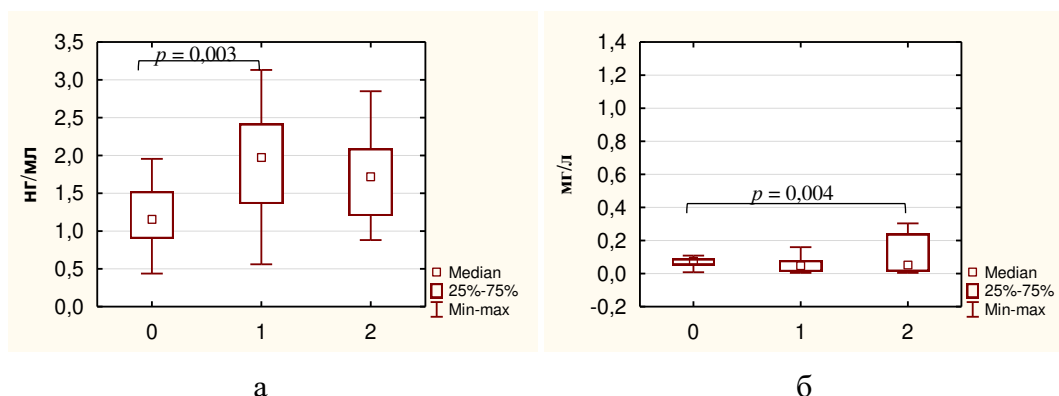


Рисунок 6 – Уровень молекул средней массы (а – подокаликсин; б – $\beta 2$ -микроглобулин) у мужчин с СД 1 типа: p – статистически значимые различия между группами

Затем нами была произведена оценка относительного количества пациентов с СД 1 типа с повышенными значениями подокаликсина относительно контрольных значений. Границы нормы показателя для контрольной группы рассчитывались с учётом коэффициента Йейтса ($M \pm t \times m$). Частота встречаемости пациентов с повышенным подокаликсином в группе А1 составила 91,4 %, в группе А2 – 74 %.

Далее был выполнен сравнительный анализ AUC (Михалевич И. М. и др., 2015; Юрьева Т. М., Михалевич И. М., 2021) ранних почечных маркеров (подокаликсина и $\beta 2$ -микроглобулина) и классических параметров (альбумина мочи и соотношения альбумин/креатинин в моче), показавший наилучшие значения чувствительности (60,0) и специфичности (92,9) для подокаликсина (Рисунок 7).

Было получено, что значения площади под кривой и показатель специфичности для подокаликсина были статистически значимо выше при сравнении с классическими почечными маркерами и $\beta 2$ -микроглобулином. Для данного параметра «cut-off» (связанный критерий, точка разделения) составил 1,76, что может свидетельствовать о вероятности наличия диабетической нефропатии в начальной стадии.

Можно заключить, что подокаликсин может рекомендоваться для дифференцированного подхода к верификации группы по развитию гломерулярных нарушений почек у мужчин, больных СД 1 типа.

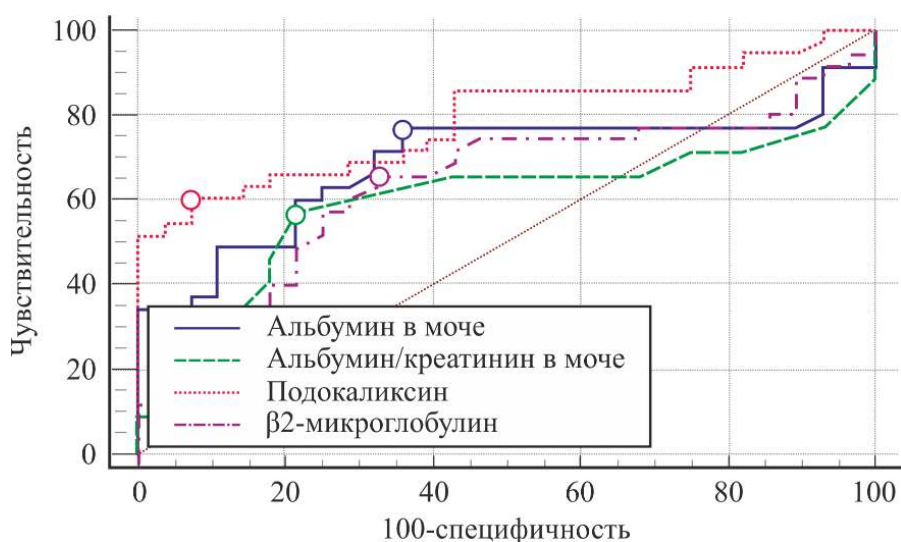


Рисунок 7 – ROC-анализ ранних (подокаликсин, β2-микроглобулин) и традиционных (альбумин мочи, альбумин/креатининовое соотношение) почечных маркеров

Сравнительный анализ изменений функциональных связей показателей окислительного, карбонильного стрессов и маркеров почечного повреждения у мужчин с сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии

В ходе работы у мужчин с СД 1 типа был проведён анализ внутри- и межсистемных корреляционных взаимосвязей окислительного, карбонильного стрессов и маркеров почечного повреждения. В контрольной группе среди параметров окислительного стресса выделялись зависимости между КД и СТ и ГР ($r = 0,56$; $p = 0,020$), ТБК-АП и МГ ($r = 0,42$; $p = 0,027$), МГ и GSH ($r = -0,34$; $p = 0,043$), СОД и ГПО ($r = 0,38$; $p = 0,042$), ГР и GSH ($r = -0,62$; $p < 0,0001$), СМП 238 и СМП 254 ($r = 0,58$; $p = 0,001$), СМП 238 и GSSG ($r = -0,41$; $p = 0,03$), СМП 254 и СМП 280 ($r = 0,56$; $p = 0,002$). Большинство связей в группе контроля носили закономерный и положительный характер.

Анализ внутрисистемных связей у пациентов в группе А1 показал наличие связей между ДК и КД и СТ ($r = 0,43$; $p = 0,011$), ДК и СМП 280 ($r = 0,43$; $p = 0,011$), КД и СТ и СМП 280 ($r = 0,39$; $p = 0,02$), ТБК-АП и α-токоферолом ($r = -0,37$; $p = 0,027$), ТБК-АП и ретинолом ($r = 0,66$; $p < 0,0001$), МГ и α-токоферолом ($r = -0,57$; $p < 0,0001$), МГ и ретинолом ($r = 0,39$; $p = 0,017$), МГ и СМП 280 ($r = -0,34$; $p = 0,044$), 8-ОНдГ и GSH ($r = 0,37$; $p = 0,029$). Значительное увеличение зависимостей среди параметров окислительного повреждения клеточных биоструктур между собой, причем положительного характера, может указывать на относительную дестабилизацию метаболических взаимоотношений, так как более устойчивыми для патологической системы считаются отрицательные взаимосвязи. Также в группе А1 были выявлены тесные связи между компонентами системы АОЗ: СОД и ГР ($r = 0,41$; $p = 0,014$), СОД и ГПО ($r = -0,35$; $p = 0,038$), СОД и GSSG ($r = 0,35$; $p = 0,041$), ГПО и α-токоферолом ($r = 0,35$; $p = 0,036$), ретинолом и α-токоферолом ($r = -0,52$; $p = 0,002$); имели место связи между ГПО и СМ 280 ($r = 0,35$; $p = 0,0139$), Г-S-T и СМП 238 ($r = -0,34$; $p = 0,048$). При изучении взаимосвязей между параметрами системы ПОЛ-АОЗ и маркерами почечного повреждения в группе мужчин с СД 1 типа группы А1 установлены следующие закономерности: между альбумином мочи и уровнем 8-ОНдГ ($r = 0,38$; $p = 0,023$), уровнем альбумин/креатининового соотношения и 8-ОНдГ ($r = 0,36$; $p = 0,03$). Указанные зависимости могут характеризовать определённое влияние генотоксических эффектов в отношении начальных проявлений

диабетической нефропатии. Отмечались многочисленные закономерные взаимосвязи нового почечного маркера – подокаликсина – с общепринятыми маркерами (альбумин/креатининовым соотношением ($r = 0,40$; $p = 0,016$) и альбумином мочи ($r = 0,34$; $p = 0,046$), а также с показателем эндогенной интоксикации – СМП 280 ($r = -0,41$; $p = 0,014$), параметром повреждения ДНК – 8-ОНдГ ($r = 0,36$; $p = 0,03$) и уровнем GSH ($r = -0,37$; $p = 0,030$). Наличие данных зависимостей указывает на значимость воздействий исследуемого маркера в отношении разного рода метаболических показателей.

При анализе взаимосвязей в группе мужчин с СД 1 типа группы А2 выявлены многочисленные внутрисистемные ПОЛ–АОЗ зависимости: ДК и КД и СТ ($r = 0,66$; $p < 0,0001$), ДК и ГПО ($r = 0,37$; $p = 0,029$), ДК и GSSG ($r = 0,50$; $p = 0,02$), КД и СТ и GSH ($r = 0,37$; $p = 0,032$), КД и СТ и GSSG ($r = 0,44$; $p = 0,01$). СОД и GSSG ($r = -0,54$; $p = 0,001$), ГПО и α -токоферолом ($r = 0,39$; $p = 0,022$), ГПО и ретинолом ($r = -0,46$; $p = 0,006$), ГПО и Г-S-T ($r = 0,40$; $p = 0,061$), ГПО и ГР ($r = 0,41$; $p = 0,012$), ГПО и GSSG ($r = 0,42$; $p = 0,014$), α -токоферолом и ретинолом ($r = -0,65$; $p < 0,0001$). Многообразие данных связей может свидетельствовать о повышенной активности факторов системы ПОЛ–АОЗ между собой. Также выявлены многочисленные взаимосвязи СМП 280 с компонентами липопероксидации: ДК ($r = 0,56$; $p = 0,01$), КД и СТ ($r = 0,46$; $p = 0,006$), ГПО ($r = 0,88$; $p < 0,0001$), α -токоферолом ($r = 0,50$; $p = 0,002$), ретинолом ($r = -0,51$; $p = 0,002$), GSH ($r = 0,40$; $p = 0,018$), GSSG ($r = 0,52$; $p = 0,002$). Кроме того, в данной группе пациентов имели место 6 зависимостей 8-ОНдГ с исследуемыми показателями: ГР ($r = 0,37$; $p = 0,033$), ГПО ($r = 0,71$; $p < 0,0001$), α -токоферолом ($r = 0,44$; $p = 0,01$), ретинолом ($r = -0,44$; $p = 0,009$), СМП 280 ($r = 0,68$; $p < 0,0001$). Можно предположить наличие направленного действия ферментативных и неферментативных факторов системы АОЗ в отношении данного показателя.

Таким образом, анализ корреляционных взаимоотношений показал увеличение количества неустойчивых взаимосвязей положительного характера в группах пациентов с СД 1 типа стадии А1 А2 по сравнению с контрольной группой. Значимость влияний нового почечного маркера – подокаликсина – в группе А1 выражалась наличием его тесных взаимодействий с показателями деструкции ДНК, эндогенной интоксикации и восстановленного глутатиона и отсутствии данных зависимостей при стадии А2.

Выявление наиболее информативных метаболических показателей у мужчин с сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии

Далее был проведён дискриминантный анализ для выявления наиболее информативных показателей у мужчин с СД 1 типа, свидетельствующих о риске развития диабетической нефропатии. В группах пациентов с СД 1 типа для чёткого разграничения двух групп из всего ряда параметров были выявлены самые информативные. Таковыми параметрами являлись GSSG, СМП 254, ДК, 8-ОНдГ, МГ. Включение данных показателей в уравнения линейной классификационной функции можно рассматривать в качестве дополнительных диагностических критериев, которые обладают высокой чувствительностью, но низкой специфичностью и позволяют включать мужчин с СД 1 типа в группу риска развития начальных проявлений нефропатии с точностью 84 %.

Для данных критериев были построены уравнения линейной классификационной функции:

$$F_1 = -24,23 + 6,41 \times x_1 + 0,63 \times x_2 + 2,71 \times x_3 + 0,23 \times x_4 + 7,7 \times x_5$$

$$F_2 = -31,28 + 7,73 \times x_1 - 1,67 \times x_2 + 3,32 \times x_3 + 0,32 \times x_4 + 8,38 \times x_5$$

где: F_1 – линейная классификационная функция для отнесения мужчин с СД 1 типа в группу со стадией нефропатии А1; F_2 – линейная классификационная функция для отнесения мужчин с СД 1 типа в группу со стадией нефропатии А2; x_1 – GSSG; x_2 – СМП 254; x_3 – ДК; x_4 – 8-ОНдГ; x_5 – МГ.

Для получения назначений по отнесению тестируемого пациента к соответствующей группе (есть риск формирования ДН или нет) значения каждого показателя были внесены

в уравнения классификационной функции. Отнесение объекта к определённой группе выполняется по максимальному значению классификационной функции. Если значение в результате тестирования было положительным ($F_1 < F_2$) и у мужчины с СД 1 типа подтверждалось наличие высокого риска развития ДН, то результат признавался истинно положительным ($a = 20$ человек), иначе он признавался ложноотрицательным ($c = 3$ человека). Если значение при тестировании было отрицательным ($F_1 > F_2$) и у мужчины с СД 1 типа не было риска формирования ДН, то полученный результат признавался истинно отрицательным ($b = 22$ человека), иначе он признавался ложноположительным ($d = 5$ человек).

Принципиально важно использовать многофакторный дискриминантный анализ, обладающий наглядностью и значимостью, для отнесения мужчин с СД 1 типа к одной из групп риска по возникновению диабетической нефропатии. Мероприятия по коррекции параметров указанных систем могут представлять собой потенциально новый фармакологический подход с целью уменьшения прогрессирования данного осложнения СД.

Изменение показателей окислительного, карбонильного стрессов и маркеров почечного повреждения у мужчин с сахарным диабетом 1 типа в динамике лечения препаратом α -липоевой кислоты

Нами были проанализированы данные, полученные после лечения препаратом α -липоевой кислоты. Всем пациентам к основной базис-болюсной инсулинотерапии был добавлен препарат α -липоевой кислоты (Sol. Ac. Thiocitici 600,0 + Sol. NaCl 200,0 внутривенно, на протяжении 10 дней). У пациентов с СД 1 типа двух исследуемых групп (А1 и А2) после проведённого лечения были измерены показатели окислительного, карбонильного стрессов.

В группе А1 статистически значимых различий в отношении продуктов ПОЛ зафиксировано не было ($p > 0,05$). При этом в группе А2 значимые различия в показателях до и после проведённой терапии были зафиксированы в отношении более низких значений ДК ($p < 0,001$) после лечения (Рисунок 8)

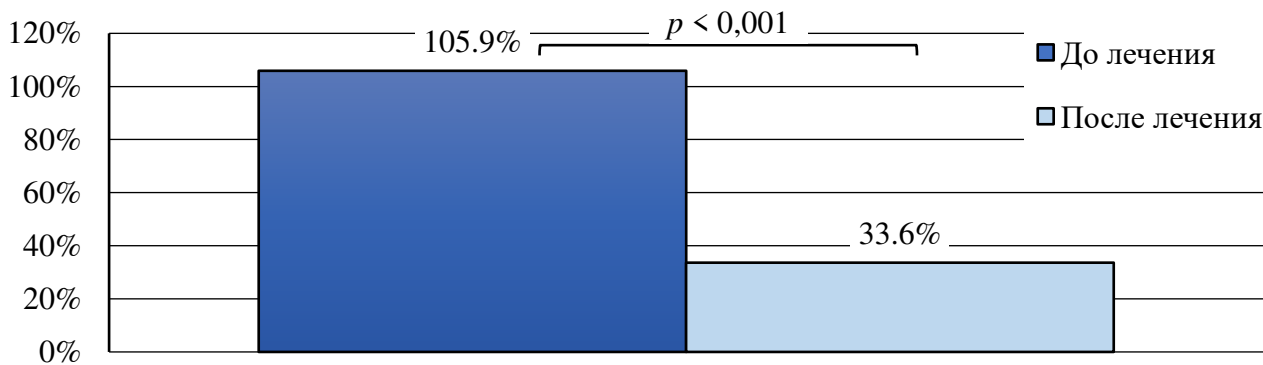


Рисунок 8 – Изменение уровня продуктов липопероксидации у мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, группы А2 после проведённого лечения (0 % – значения контрольной группы): p - статистически значимые различия с показателями до лечения

В отношении 8-OHdG и МГ в группе А1 после проведённого лечения значимых изменений в сравнении с данными этой группы до лечения не наблюдалось ($p > 0,05$). В группе А2 значения 8-OHdG после лечения снижались и практически достигали контрольных значений.

При исследовании активности компонентов системы АОЗ на фоне антиоксидантной терапии был выявлен рост общей АОА крови ($p < 0,001$) в группе А1 относительно данных до лечения (Рисунок 9). В группе А2 статистически значимых изменений в показателях после лечения относительно данных до терапии выявлено не было ($p > 0,05$). В системе глутатиона после лечения α -липоевой кислотой в группе А1 отмечался статистически значимый рост значений Г-S-T относительно данных до лечения ($p = 0,006$). Активность

ГПО возрастала в сравнении с данными до лечения ($p = 0,043$), но оставалась сниженной относительно контроля (Рисунок 9).

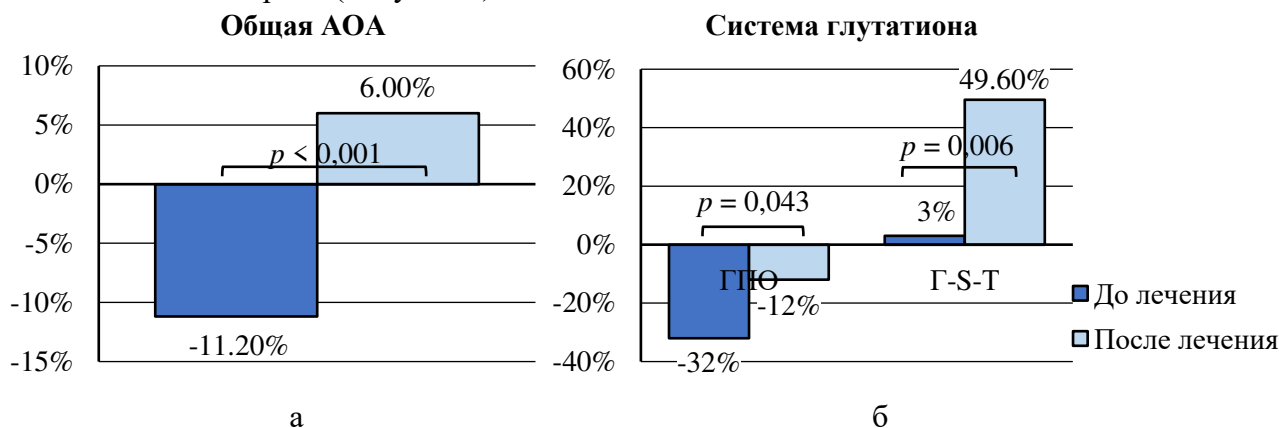


Рисунок 9 – Изменение уровня общей АОА (а) и состояние системы глутатиона (б) у мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, группы А1 после проведенного лечения (0 % – значения контрольной группы): p – статистически значимые различия с показателями до лечения

В группе больных со стадией А2 после антиоксидантной терапии было зарегистрировано снижение концентрации GSH ($p = 0,035$) и GSSG ($p = 0,042$) относительно данных до лечения (Рисунок 10).

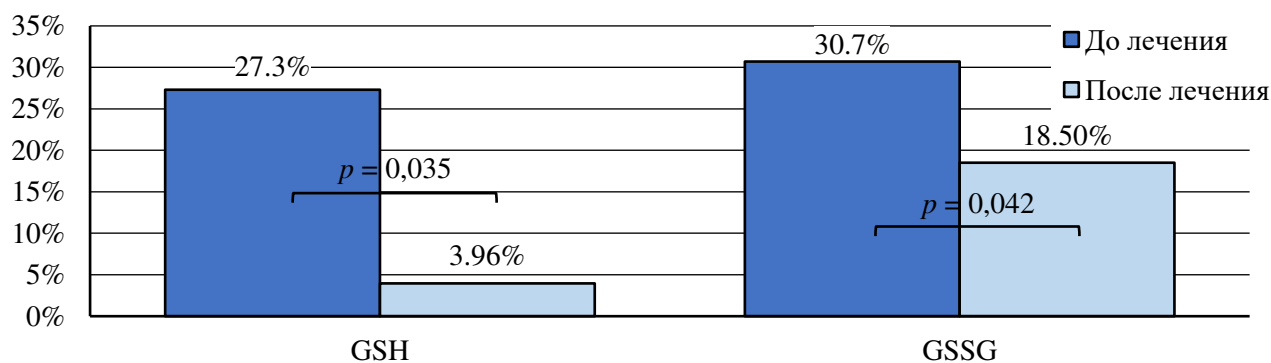


Рисунок 10 – Состояние системы глутатиона у мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, группы А2 после проведенного лечения (0 % – значения контрольной группы): p – статистически значимые различия с показателями до лечения

Концентрация СМП после лечения снижалась только в группе А1 ($p = 0,014$, $p = 0,026$ и $p < 0,0001$ для СМП 238, СМП 254 и СМП 280 соответственно) относительно данных до лечения (Рисунок 11).

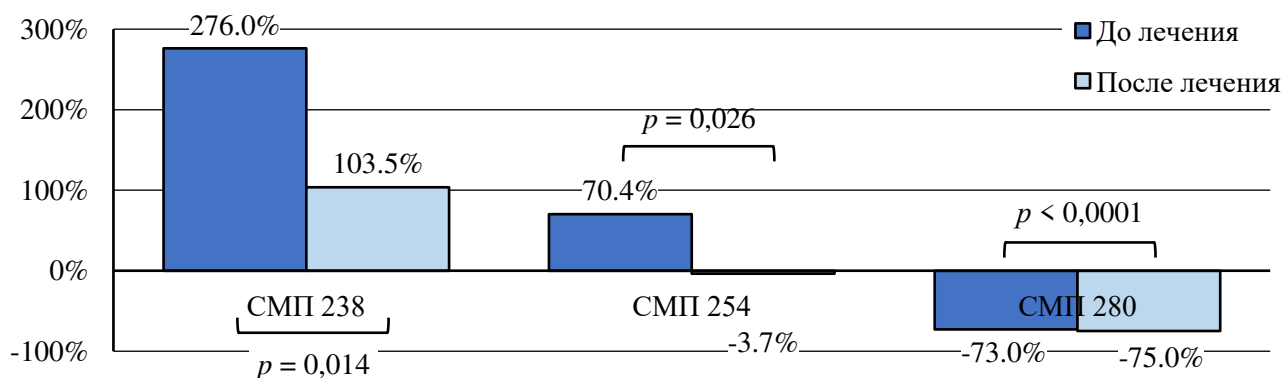


Рисунок 11 – Показатели СМП у мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, группы А1 после проведенного лечения (0 % – значения контрольной группы): *p* – статистически значимые различия с показателями до лечения

В целом в группе А1 после лечения α -липоевой кислотой отмечалась положительная динамика в отношении показателей эндогенной интоксикации. Снижение СМП у пациентов группы А1 после лечения может свидетельствовать о благоприятном эффекте используемой антиоксидантной терапии. Можно сказать, что группа А1 после проведенного лечения демонстрировала лучшую динамику изменений в системе АОЗ в сравнении с группой А2. Более высокий уровень ряда антиоксидантных факторов может свидетельствовать о результативности применения данного антиоксидантного препарата в группе А1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на основании литературных и полученных в ходе исследования данных нами была предложена концептуальная схема изменений показателей окислительного, карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и их взаимосвязей с ранними почечными маркерами у пациентов-мужчин с СД 1 типа и начальными проявлениями нефропатии (Рисунок 12). Развитие СД 1 типа характеризуется гипергликемией и сопровождается нарушением митохондриальной биоэнергетики вследствие редокс-дисбаланса. Взаимодействие АФК с клеточными структурами – липидами, белками и ДНК – в конечном итоге приводит к их модификации, с каскадом реакций окислительного стресса, сопутствующим повышением уровня прооксидантов и снижением параметров антиоксидантной защиты. Окислительный стресс различных биоструктур в свою очередь влечёт за собой повышение параметров карбонильного стресса, повреждение ДНК. Данные нарушения касаются и стадии А1, когда ярко выраженных изменений функционирования почечных структур ещё не происходит. При исследовании ранних параметров ренального повреждения в обеих группах пациентов с СД 1 типа зафиксировано повышение уровня подокаликсина в моче, который можно считать ранним маркером почечного повреждения. Ряд взаимосвязей указанного маркера с исследуемыми показателями свидетельствует о значимости его воздействий в отношении разного рода метаболических параметров. Вышеперечисленные изменения способны вызывать воспаление, эндотелиальную дисфункцию с последующим повреждением клубочкового аппарата почки и формированием фиброза. Сформированные изменения при отсутствии коррекции неминуемо ведут к прогрессивному снижению почечной функции, усугублению ренального повреждения и выраженной потере белка с мочой – формированию необратимой даже в условиях нефропротекции стадии А3 с последующим развитием терминальной почечной недостаточности. Учитывая многогранность патогенеза ДН, в качестве профилактики формирования и прогрессирования данного осложнения можно рекомендовать проведение соответствующей коррекции реакций окислительного повреждения клеточных структур с применением препаратов с антиоксидантной активностью, в частности препарата α -липоевой кислоты.



Рисунок 12 – Концептуальная схема изменений показателей окислительного, карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и их взаимосвязей с ранними почечными маркерами у мужчин с СД 1 типа и начальными проявлениями нефропатии:

* – по данным литературы

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с сахарным диабетом 1 типа и диабетической нефропатией стадии А1 в сравнении с контролем в системе липопероксидации отмечались более высокие значения ДК ($p = 0,003$), КД и СТ ($p = 0,019$), ретинола ($p < 0,001$), на фоне сниженных уровней ТБК-активных продуктов ($p = 0,023$), общей АОА ($p = 0,011$), α -токоферола ($p = 0,009$) и активности ГПО ($p = 0,0003$).

2. У пациентов с сахарным диабетом 1 типа и диабетической нефропатией стадии А2 установлена повышенная концентрация ДК ($p < 0,0001$), КД и СТ ($p < 0,0001$), ретинола ($p = 0,005$), активности ГР ($p < 0,001$), уровня GSH ($p = 0,010$) и GSSG ($p < 0,0001$), более низкое содержание ТБК-активных продуктов ($p = 0,023$) и α -токоферола ($p = 0,033$) относительно контроля. Относительно стадии А1 наблюдались более высокие значения ДК ($p = 0,011$), GSH ($p = 0,027$) и GSSG ($p = 0,03$).

3. Показатель деструкции ДНК – 8-ОНдГ – обнаруживал более высокие значения только в группе А2 как в сравнении с контролем ($p = 0,010$), так и в сравнении с группой А1 ($p = 0,010$). Параметр карбонильного стресса – МГ – возростал относительно контроля как в группе А1 ($p < 0,001$), так и в группе А2 ($p < 0,001$). Показатели эндогенной интоксикации – среднемолекулярные пептиды – претерпевали следующие изменения: повышенные значения СМП 238 ($p < 0,0001$), СМП 254 ($p = 0,020$) и сниженные – СМП 280 ($p < 0,0001$) в группе А1 относительно контроля и повышенные значения СМП 238 ($p = 0,003$) и сниженные СМП 280 ($p < 0,0001$) в группе А2 относительно контроля.

4. У пациентов с сахарным диабетом 1 типа были установлены более высокие значения подокаликсина в группах А1 ($p = 0,003$) и А2 ($p = 0,004$) относительно контроля. Статистически значимых различий в отношении β 2-микроглобулина выявлено не было. Сравнительный анализ площадей под характеристическими кривыми ранних (подокаликсин и β 2-микроглобулин) и классических (альбумин мочи и соотношение альбумин/креатинин в моче) почечных маркеров также показал наилучшие значения чувствительности (60,0) и специфичности (92,9) для подокаликсина.

5. Анализ корреляционных взаимоотношений показал увеличение количества неустойчивых взаимосвязей положительного характера в группах пациентов с сахарным диабетом 1 типа и диабетической нефропатией стадий А1 и А2 по сравнению с контрольной группой. Значимость влияния нового почечного маркера – подокаликсина – в группе А1 выражалась наличием его тесных взаимодействий с показателями деструкции ДНК, эндогенной интоксикации и GSH в группе пациентов со стадией А1 и отсутствием данных зависимостей при стадии А2.

6. Выявлены наиболее значимые факторы прогнозирования начальных стадий диабетической нефропатии: GSSG, СМП 254, ДК, 8-ОНдГ, МГ, – позволяющие обосновать проведение профилактических мероприятий по коррекции данных нарушений у мужчин с сахарным диабетом 1 типа.

7. Анализ результатов у пациентов исследуемых групп после терапии α -липоевой кислотой показал рост значений показателя общей АОА ($p < 0,001$), Г-S-T ($p = 0,006$), активности ГПО ($p = 0,043$) в группе А1 и снижение концентрации ДК ($p < 0,001$), GSH ($p = 0,035$) и GSSG ($p = 0,042$) в группе А2 относительно данных до лечения. Концентрация среднемолекулярных пептидов после лечения снижалась только в группе А1 – СМП 238 ($p = 0,014$), СМП 254 ($p = 0,026$) и СМП 280 ($p < 0,0001$) относительно данных до лечения.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ

1. Modern markers of renal damage in diabetes mellitus / L. I. Kolesnikova, **E. V. Chugunova**, M. A. Darenskaya, L.A. Grebenkina // **International Journal of Biomedicine**. – 2020. – Vol. 10, № 1. – P. 9–15. (**Web of Science, Scopus**)
2. Content of carbonyl compounds and parameters of glutathione metabolism in men with type 1 diabetes mellitus at preclinical stages of diabetic nephropathy / M. A. Darenskaya, **E. V. Chugunova**, S. I. Kolesnikov, L.A. Grebenkina, N.V. Semenova, O.A. Nikitina, L.I. Kolesnikova // **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**. – 2021. – Vol. 171, № 5. – P. 592–595. (**Web of Science, Scopus**)
3. Lipid peroxidation processes in men with type 1 diabetes mellitus following α -lipoic acid treatment / M. A. Darenskaya, **E. V. Chugunova**, S. I. Kolesnikov, N.V. Semenova, O.A. Nikitina, L.I. Kolesnikova // **AIMS Medical Science**. – 2021. – Vol. 8, № 4. – P. 291–300. (**Web of Science**)
4. Some oxidative stress indicators changes in type 1 diabetes mellitus patients at the preclinical stage of diabetic nephropathy / **E. V. Chugunova**, M. A. Darenskaya, N. V. Semenova, L.I. Kolesnikova, S.I. Kolesnikov // **Diabetes Technology and Therapeutics**. – 2021. – Vol. 23, № S2. – P. 235–236. (**Web of Science, Scopus**)
5. Показатели эндогенной интоксикации и липопероксидации в динамике лечения α -липовоей кислотой мужчин с диабетической нефропатией в стадии микроальбуминурии / М. А. Даренская, **Е. В. Чугунова**, С. И. Колесников, Л.А. Гребенкина, Н.В. Семенова, О.А. Никитина, Л.И. Колесникова // **Клиническая нефрология**. – 2021. – Т. 13, № 3. – С. 38–43. (**RSCI**)
6. Carbonyl stress parameters in men with type 1 diabetes mellitus and albuminuria different levels / M.A. Darenskaya, S.I. Kolesnikov, E.V. Chugunova, A.S. Brichagina, L.I. Kolesnikova // **Diabetes Technology and Therapeutics**. – 2022. – Vol. 24, № S1. – P. S218. (**Web of Science, Scopus**)
7. Diabetic patients with normoalbuminuria and microalbuminuria: methylglyoxal content and glutathione metabolism indicators / M. Darenskaya, **E. Chugunova**, S. I. Kolesnikov, N.V. Semenova, O. Nikitina, L. Kolesnikova // **Free Radical Biology and Medicine**. – 2022. – Vol. 180, № S1. – P. S90. (**Web of Science, Scopus**)
8. Lipid peroxidation products content in men with type 1 diabetes mellitus treated with α -lipoic acid / M. A. Darenskaya, S. I. Kolesnikov, **E. V. Chugunova**, N.V. Semenova, L.I. Kolesnikova // **Diabetes Technology and Therapeutics**. – 2022. – Vol. 24, № S1. – P. 215–216. (**Web of Science, Scopus**)
9. The podocalyxin and lipid metabolism indicators levels in patients with type 1 diabetes mellitus and different levels of albuminuria / M. A. Darenskaya, S. I. Kolesnikov, **E. V. Chugunova** O.A. Nikitina, L.I. Kolesnikova // **Diabetes Technology and Therapeutics**. – 2022. – Vol. 24, № S1. – P. S216. (**Web of Science, Scopus**)
10. Маркеры почечного повреждения, липидного обмена и карбонильного стресса у пациентов с сахарным диабетом 1 типа и разным уровнем альбуминурии / М. А. Даренская, **Е. В. Чугунова**, С.И. Колесников, Л.А. Гребенкина, Н.В. Семенова, О.А. Никитина, Л.И. Колесникова // **Бюллетень сибирской медицины**. – 2022. – № 2. – С. 33–40. (**Web of Science**)
11. Уровень маркеров окислительного повреждения липидов и ДНК у мужчин с сахарным диабетом 1 типа и разным уровнем альбуминурии Даренская М.А., **Чугунова Е.В.**, С.И. Колесников, Л.А. Гребенкина, Н.В. Семенова, О.А. Никитина, Л.И. Колесникова // **Сахарный диабет**. – 2022. – Т. 25, № 2. – С. 120–127. (**Web of Science, Scopus**)

Публикации в иных изданиях

12. Анализ взаимосвязей клинико-лабораторных показателей и уровня подокаликсина и β 2-микроглобулина у мужчин с СД 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии / М. А. Даренская, Л. И. Колесникова, **Е. В. Чугунова**, Л. А. Гребенкина // Молодые учёные России: Сборник статей VII Всероссийской научно-практической конференции ; в 2 ч. – Пенза : МЦНС «Наука и Просвещение», 2021. – Ч. 1. – С. 157–159.

13. Голышева, К. В. Инновационные методы гликемического контроля в оптимизации сахароснижающей терапии у пациента с сахарным диабетом 1 типа и нефропатией / К. В. Голышева, **Е. В. Чугунова**, Л. С. Андреева // Актуальные вопросы современной медицины: Сборник материалов 86-й Всероссийской Байкальской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием, посвящённой 100-летию Иркутского государственного медицинского университета ; под ред. И. В. Малова, И. Ж. Семинского, А. Г. Макеева, ассистента, к.м.н. Д.А. Ступина, Я.А. Гаскиной, А.И. Гаскина, А.А. Долбилкина.– Иркутск : ИНЦХТ, 2019. – С. 562.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АОА – общая антиокислительная активность
АОЗ – антиоксидантная защита
АФК – активные формы кислорода
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
Г-S-T – глутатион-S-трансфераза
ГПО – глутатионпероксидаза
ГР – глутатионредуктаза
ДК – диеновые конъюгаты
ДН – диабетическая нефропатия
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ИМТ – индекс массы тела
КД и СТ – кетодиены и сопряжённые триены
КОС – коэффициент окислительного стресса
КПП – конечные продукты гликирования
МГ – метилглиоксаль
ОС – окислительный стресс
ОХС – общий холестерин
ПОЛ – перекисное окисление липидов
СД – сахарный диабет
СКФ – скорость клубочковой фильтрации
СМП – среднемолекулярные пептиды
ТАГ – триацилглицериды
ТБК-АП – активные продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой
ХС-ЛПВП – холестерин липопротеидов высокой плотности
ХС-ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности
ХС-ЛПНП – холестерин липопротеидов низкой плотности
8-OHdG – 8-OH-2-деоксигуанозин
 α -ЛК – α -липовая кислота
AUC – площадь под характеристической кривой (area under curve)
GSH – восстановленный глутатион
GSSG – окисленный глутатион
HbA1C – гликированный гемоглобин

Подписано в печать 24.10.2022. Бумага офсетная. Формат 60×84¹/₁₆.
Гарнитура Таймс. Усл. печ. л. 1,0
Тираж 100 экз. Заказ № 047-22.

РИО ИНЦХТ

(Иркутск, ул. Борцов Революции, 1. Тел. 29-03-37. E-mail: arleon58@gmail.com)