

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОБМЕНА ГЛУТАТИОНА В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ РИСКА РАЗВИТИЯ КОНТРАСТ-ИНДУЦИРОВАННОЙ НЕФРОПАТИИ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА

С.Н. Жерегеля¹, С.И. Глушков², А.И. Карпищенко²

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Литовская, д.2, Санкт-Петербург, 194100, Россия

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Льва Толстого, д. 6-8, Санкт-Петербург, 197022, Россия

Аннотация

Обоснование. Общий риск развития контраст-индуцированной нефропатии при проведении исследования с использованием контраста не превышает 2%, но увеличивается до 20 – 40% у пациентов с сахарным диабетом, застойной сердечной недостаточностью, хронической болезнью почек и лиц пожилого возраста. Кроме того, возникновение контраст-индуцированной нефропатии после процедур катетеризации сердца сопряжено с госпитальной летальностью до 20% и смертностью в течение года до 66% и выше у пациентов, которым потребовался диализ.

Цель. Определить вклад изменений обмена глутатиона в механизмы формирования контраст-индуцированной нефропатии для оптимизации мероприятий по их профилактике, диагностике и лечению.

Материалы и методы. В проведенном исследовании на 200 белых беспородных крысах-самцах определяли динамику изменений концентрации восстановленного глутатиона, малонового диальдегида, а также активности ферментов антиоксидантной защиты (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и каталазы) в тканях почек и в эритроцитах лабораторных животных в условиях интоксикации рентгеноконтрастным препаратом на фоне экспериментального (аллоксанового) сахарного диабета.

Результаты. Пусковым патогенетическим фактором развития контраст-индуцированной нефропатии является суммирование угнетающего воздействия сахарного диабета и рентгеноконтрастных препаратов на активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы в тканях почек, приводящее к снижению концентрации

восстановленного глутатиона и нарушениям тиол-дисульфидного равновесия. Следствием этого может стать падение активности тиол-зависимых ферментов, а затем и нарушения ряда клеточных функций. Нарушения обмена глутатиона выявляются даже на фоне сохранения концентрации стандартных показателей оценки функции почек (мочевина и креатинин в сыворотке крови) на уровне интактного контроля. Всё это указывает на то, что изучение состояния системы глутатиона (в первую очередь, активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы) в клетках крови являются высоко чувствительными методами.

Заключение. Нарушения глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной и глутатионредуктазной активности в тканях почек можно рассматривать как пусковой патогенетический фактор реализации нефротоксических эффектов действия рентгеноконтрастных препаратов. Определение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы в эритроцитах представляет собой перспективный, высокочувствительный, патогенетически обоснованный лабораторный метод оценки риска возникновения и тяжести контраст-индуцированной нефропатии.

Ключевые слова: контраст-индуцированная нефропатия, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, глутатионредуктаза, аллоксановый сахарный диабет, глутатион, рентгеноконтрастные препараты.

**EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE USE OF GLUTATHIONE
METABOLISM INDICATORS IN LABORATORY DIAGNOSTICS OF THE RISK OF
DEVELOPING CONTRAST-INDUCED NEPHROPATHY AGAINST THE
BACKGROUND OF DIABETES MELLITUS**

S.N. Zheregelya¹, S.I. Glushkov², A.I. Karpishchenko²

¹St. Petersburg State Pediatric Medical University, Litovskaya str., 2, St. Petersburg, 194100,
Russia

²Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, L'va Tolstogo str. 6-8, St. Petersburg,
197022, Russia

Annotation.

Background. The overall risk of developing contrast-induced nephropathy during a study using contrast does not exceed 2%, but increases to 20-40% in patients with diabetes mellitus, congestive heart failure, chronic kidney disease and the elderly. In addition, the occurrence of contrast-induced nephropathy after cardiac catheterization procedures is associated with hospital mortality of up to 20% and mortality within a year of up to 66% and higher in patients who required dialysis.

Objective. To determine the contribution of changes in glutathione metabolism to the mechanisms of formation of contrast-induced nephropathy to optimize measures for their prevention, diagnosis and treatment.

Materials and methods. In a study conducted on 200 white mongrel male rats, the dynamics of changes in the concentration of reduced glutathione, malondialdehyde, as well as the activity of antioxidant defense enzymes (glucose-6-phosphate dehydrogenase, glutathione peroxidase, glutathione reductase and catalase) in kidney tissues and in erythrocytes of laboratory animals under the conditions of intoxication with an X-ray contrast preparation against the background of experimental (alloxane) diabetes mellitus were determined.

Results. The triggering pathogenetic factor in the development of contrast-induced nephropathy is the summation of the depressing effects of diabetes mellitus and radiopaque drugs on the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and glutathione reductase in kidney tissues, leading to a decrease in the concentration of reduced glutathione and violations of thiol-disulfide equilibrium. The consequence of this may be a decrease in the activity of thiol-dependent enzymes, and then a violation of a number of cellular functions. Disorders of glutathione metabolism are detected even against the background of maintaining the concentration of standard indicators for assessing kidney function (urea and creatinine in blood serum) at the level

of intact control. All this indicates that the study of the state of the glutathione system (primarily, the activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and glutathione reductase) in blood cells are highly sensitive methods.

Conclusion. Violations of glucose-6-phosphate dehydrogenase and glutathione reductase activity in kidney tissues can be considered as a trigger pathogenetic factor in the realization of nephrotoxic effects of radiopaque drugs. Determination of glucose-6-phosphate dehydrogenase and glutathione reductase activity in erythrocytes is a promising, highly sensitive, pathogenetically based laboratory method for assessing the risk and severity of contrast-induced nephropathy.

Keywords. Contrast-induced nephropathy, glucose-6-phosphate dehydrogenase, glutathione reductase, alloxan diabetes mellitus, glutathione, radiopaque drugs.

Введение.

Острое повреждение почек, вызванное введением рентгеноконтрастных препаратов (РКП), является ведущей причиной ятрогенной почечной недостаточности. По литературным данным, пациенты с диабетической нефропатией относятся к группе высокого риска развития контраст-индуцированной нефропатии (КИН) [1].

Отсутствие единого определения термина КИН затрудняет сравнение проводимых исследований. Традиционно, диагноз КИН ставится на основе двухкратного измерения уровня сывороточного креатинина (до и после проведения исследования с введением рентгеноконтрастного вещества) [2, 3].

Руководство по применению йодсодержащих контрастных веществ у пациентов с заболеванием почек [4] определяет КИН, как изменение концентрации креатинина сыворотки, повышающее на $\geq 0,5$ мг/дл (или $\geq 25\%$) исходный уровень в течение 72 часов после введения контраста. Поскольку КИН является формой острого повреждения почек, его также можно оценивать и с использованием диагностических критериев оценки последнего (Клинические рекомендации KDIGO по острой травме почек [5]). Согласно этим рекомендациям на развитие КИН указывает превышение концентрации сывороточного креатинина более чем на 0,3 мг/дл (или в 1,5 раза) значений базального уровня длительностью 48 часов в течение 7 суток от момента введения контраста. Второй критерий – это снижение объема мочи до $<0,5$ мл/кг/ч в течение 6 ч после введения йодсодержащего контрастного вещества. Кроме того, необходимо проведение оценки степени тяжести (стадии) острой почечной патологии [5].

Общий риск развития КИН при проведении исследования с использованием контраста не превышает 2% [4], но увеличивается до 20 – 40% у пациентов с сахарным диабетом (СД), застойной сердечной недостаточностью, хронической болезнью почек (ХБП) и лиц пожилого возраста [1]. Кроме того, возникновение КИН после катетеризации сердца сопряжено с госпитальной летальностью до 20% и смертностью в течение года до 66% и выше у пациентов, которым потребовался диализ [6]. Ежегодно в мире приблизительно у 150 000 пациентов возникает КИН, по меньшей мере 1% из них нуждается в диализе и длительном пребывании в стационаре, увеличивающим стоимость медицинской помощи [4]. Рандомизированное исследование (The Iohexol Cooperative Study) показало, что СД при исходно нормальной функции почек не влияет на риск развития ОПН, но существенно повышает таковой при сочетании с почечной недостаточностью [7]. Имеются сведения и о достоверно более частом развитии КИН при проведении коронарографии у лиц с почечной патологией и преддиабетом (гипергликемией натощак в рамках метаболического синдрома) по сравнению с лицами

без такового [8]. Нарушения углеводного обмена и повышенный риск развития КИН тесно взаимосвязаны основными патогенетическими механизмами – развитием ишемического поражения почечной ткани (вследствие снижения почечного кровотока) и прямым нефротоксическим воздействием при введении контраста [9].

Вопрос о том, имеют ли пациенты с диабетом и нормальной функцией почек повышенную склонность к развитию КИН, остается спорным. Результаты некоторых исследований предполагают, что у этих пациентов может быть повышенный риск КИН [9], тогда как другие исследования не смогли показать эту связь. Неоднородность этих результатов может быть связана с существованием различных фенотипов диабетической нефропатии, особенно на ранних стадиях заболевания.

Патогенез.

Для объяснения патогенеза развития КИН в настоящее время предложено несколько механизмов. Непрямые эффекты действия рентгеноконтрастных препаратов могут быть связаны с изменениями почечной гемодинамики, приводящими к внутрипочечной вазоконстрикции, что способствует гипоксии мозгового вещества [10, 11]. Последняя развивается либо вследствие уменьшения концентрации вазодилататоров (оксида азота или простагландинов), либо из-за увеличения содержания вазоконстрикторов (аденозина и эндотелина). Прямые эффекты РКП с высокой осмоляльностью реализуются через непосредственное цитотоксическое воздействие на нефроны, включая эпителиальные клетки почечных канальцев и эндотелиальные клетки, что приводит к дисфункции митохондрий, апоптозу или некрозу и интерстициальному воспалению [6]. Считается, что пусковым фактором активации цитокин-индуцированных медиаторов воспаления служит ускоренная наработка свободных радикалов. И наоборот, ингибирование или уменьшение образования свободных радикалов может уменьшить выраженность КИН за счет подщелачивания канальцевых клеток [10, 12]. Показано, что введение РКП может вызывать чрезмерное производство активных форм кислорода (АФК), либо снижать активность антиоксидантных ферментов, что приводит к усилению окислительного стресса и нарушению функции почек [13, 14]. Кроме того, собственно медуллярная гипоксия так же приводит к усиленному образованию АФК и митохондриальному окислительному стрессу в результате митохондриальной дисфункции [14]. В целом можно видеть, что функция митохондрий и окислительный стресс играют важную роль в патофизиологии развития КИН [14]. Следовательно, стратегии, предотвращающие развитие окислительного стресса, являются перспективными и для предотвращения КИН.

Цель исследования.

Для выяснения особенностей функционирования обмена глутатиона в условиях развития рентгеноконтрастной нефропатии на фоне экспериментального сахарного диабета нами было проведено комплексное исследование ряда показателей системы глутатиона и сопряженных процессов в тканях различных органов.

Материалы и методы.*Модель на животных*

Экспериментальные исследования выполнены на 100 белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г. Содержание и использование животных в эксперименте проводилось согласно положениям, изложенным в работе И.П. Западнюка (1983). Животных содержали в виварии в пластмассовых клетках по 10 голов при температуре воздуха 20°-22°С, естественном освещении, на подстилках из опилок деревьев лиственных пород. Кормление осуществлялось *ad libitum*, в первой половине дня. Сопоставимость экспериментальных групп обеспечивали рандомизацией выборок, использовавшихся в экспериментах.

Для моделирования рентгеноконтрастной нефропатии на фоне экспериментального сахарного диабета животным однократно внутрибрюшинно вводили аллоксан в дозе 1,7 г/кг массы тела животных и «омнипак-300» (йогексол) – водный раствор N,N-бис(2,3-дигидроксипропил)-5-[N-(2,3-дигидроксипропил) ацетамид 2,4,6-трийодизоталамида («Nicomed», Норвегия) в дозе 10 г/кг массы тела. Исследования проводили на 5-е сутки после введения препаратов.

После введения препаратов до момента забоя животные опытных групп содержались в тех же условиях, что и животные контрольной группы.

Получение образцов тканей для исследований

В день умерщвления лабораторных животных взвешивали и анестезировали изофлураном. Перед забором, с целью получения материала для исследований от лабораторных животных, производили декапитацию крыс. Полученную кровь стабилизировали 4% раствором цитрата натрия в соотношении стабилизатор:кровь – 1:6-1:8, затем охлаждали и немедленно использовали в исследованиях. Извлеченные после декапитации почки отмывали холодным физиологическим раствором от крови в течение 35-50 с и замораживали в жидком азоте. Образцы хранились до момента исследования в сосуде Дюара с жидким азотом.

Перед исследованием почки лабораторных животных извлекали из жидкого азота, взвешивали, измельчали и гомогенизировали в микроизмельчителе тканей РТ-2 (Россия) с

пестиковым гомогенизатором при 3000 об./мин, добавляя охлажденный до температуры 0°C 0,1 М калий-фосфатный буфер с pH 7,4 в соотношении ткань:буфер – 1:6.

Полученный гомогенат использовали для определения концентрации восстановленного глутатиона, сульфгидрильных групп, малонового альдегида. Время от момента размораживания тканей до отбора проб гомогенатов и осаждения в них белка кислотами не превышало 45-60 с.

Для определения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы (ГР), глутатионтрансферазы (ГТ) и каталазы (КАТ) использовали очищенную цитоплазматическую фракцию, которую получали дифференциальным центрифугированием. Гомогенат переносили в пластиковые стаканчики и центрифугировали в течение 20 мин при +4°C с ускорением 20 000 g на центрифуге K-24D (Германия). Супернатант рецентрифугировали в течение 60 мин при +2°C при 44 500 об./мин (ускорение 150 000 g) с использованием ротора Type 50 3.Ti на ультрацентрифуге L8-M («Beckman», США). Полученный супернатант использовали для определения активности исследуемых ферментов.

Определение показателей обмена глутатиона

Концентрацию восстановленного глутатиона, сульфгидрильных групп белков, малонового альдегида и активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатионредуктазы и каталазы определяли с помощью спектрофотометрических методов унифицированными методиками [15].

Содержание белка в каждом образце определяли методом Лоури в модификации G.L. Peterson [16].

Определение концентрации гемоглобина

Содержание гемоглобина в гемолизатах эритроцитов определяли с помощью стандартных наборов «Ольвекс» (Россия) гемиглобинцианидным методом [16].

Определение биохимических показателей нефротоксичности в сыворотке крови экспериментальных животных

Биохимические показатели нефротоксичности [17] (креатинин, мочевины) в сыворотке крови экспериментальных животных определяли на автоматическом биохимическом анализаторе «Synchron» («Beckman – Coulter», США), мочевины – на автоматическом биохимическом анализаторе Hitachi – 902 Automatik («Hitachi», Япония).

Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку полученных результатов проводили на персональном компьютере с помощью пакета прикладных программ «STATISTICA 6,0». В каждой группе рассчитывали средние значения и ошибку среднего. Проводился корреляционный

анализ изменений показателей системы глутатиона в эритроцитах и ткани почек исследуемых животных. Достоверность различий с соответствующей контрольной группой оценивали по t-критерию Стьюдента. Приведенные в тексте и таблицах значения представляли в виде $\bar{X} \pm m\bar{x}$.

Результаты.

Состояние системы глутатиона в тканях лабораторных животных при введении неионного РКП на фоне экспериментального сахарного диабета

В данной статье мы представляем результаты исследования обмена глутатиона в почечной ткани на 5 сутки после введения неионного РКП в дозе 10 мг/кг на фоне сформировавшегося сахарного диабета (таблица 1).

Таблица 1.

Изменения показателей обмена глутатиона в тканях почек белых беспородных крыс на 5 сутки после введения неионного РКП в дозе 10 г/кг на фоне экспериментального сахарного диабета.

Исследуемые показатели	Исследуемые группы			
	Контроль	ЭСД	РКП	РКП на фоне ЭСД
ВГ, ммоль/г ткани	$7,14 \pm 0,15$	$7,50 \pm 0,33$	$7,68 \pm 0,47$	$6,44 \pm 0,47$
СГ, ммоль/г ткани	$14,26 \pm 0,87$	$16,00 \pm 1,80$	$15,59 \pm 0,84$	$15,85 \pm 2,23$
МДА, нмоль/г ткани	$168,83 \pm 2,82$	$173,98 \pm 9,98$	$183,77 \pm 7,76$	$185,81 \pm 9,53$
Г-6-ФДГ, мкмоль/(мин • г белка)	$43,47 \pm 2,03$	$31,38 \pm 3,90^*$	$41,81 \pm 2,39$	$23,51 \pm 2,68^* \#$
ГР, мкмоль/(мин • г белка)	$152,17 \pm 8,02$	$103,20 \pm 4,54^*$	$107,73 \pm 10,83^*$	$86,46 \pm 4,64^*$
ГТ, мкмоль/(мин • г белка)	$229,88 \pm 25,44$	$171,11 \pm 17,22$	$180,95 \pm 23,89$	$182,28 \pm 26,89$
ГП, ммоль/(мин • г белка)	$3,61 \pm 0,21$	$3,55 \pm 0,16$	$3,69 \pm 0,28$	$3,65 \pm 0,26$
Каталаза, мкмоль/(мин • г белка)	$595,92 \pm 26,18$	$509,70 \pm 48,01$	$443,99 \pm 60,31^*$	$477,34 \pm 41,18^*$

* – достоверность отличия $p < 0,05$ по сравнению с группой контроля

– достоверность отличия $p < 0,05$ по сравнению с группой отравленных животных

В проведенном исследовании мы не выявили достоверного снижения уровня ВГ, а также концентрации СГ в тканях животных экспериментальных групп, однако эти данные не могут свидетельствовать об отсутствии повреждений системы глутатиона и выполняемых ею функций. Степень её нарушений, в том числе и декомпенсацию

функциональных возможностей, по-видимому, следует оценивать не только исходя из определения таких параметров, как уровень восстановленного глутатиона и сульфгидрильных групп белков, но и из оценки активности входящих в нее ферментов обмена глутатиона.

С одной стороны, не было получено достоверных сведений о существенных сдвигах баланса между про- и антиоксидантными системами: во всех опытных группах глутатионпероксидазная активность сохранялась на уровне контрольных значений, тенденция к снижению активности ГТ не имела статистической достоверности, отсутствовало и значимое повышение концентрации малонового диальдегида в тканях почек. Все это может свидетельствовать об отсутствии истощения возможностей системы глутатиона по поддержанию антиоксидантной функции в условиях применения неионного РКП на фоне сахарного диабета.

С другой стороны, данные об изменениях активности Г-6-ФДГ и ГР, позволили сделать вывод о включении изменений ферментативного звена обмена глутатиона в патогенез повреждения почечной ткани у больных сахарным диабетом после введения неионных РКП. Было выявлено наличие эффекта потенцирования угнетающего воздействия ЭСД и РКП на глюкозо-6-фосфатдегидрогеназную и глутатионредуктазную активность в почечной ткани отравленных животных.

Так, использование аллоксана приводило к достоверному ($p<0,05$) снижению активности ГР и Г-6-ФДГ в почечной ткани на 32,2 % и 27,8%, соответственно. Введение РКП вызывало достоверное уменьшение активности ГР в почечной ткани на 29,2% ($p<0,05$) ниже значений контрольной группы, а активность Г-6-ФДГ практически не изменялась. Использование омнипак-300 на фоне ЭСД сопровождалось наиболее выраженным ($p<0,05$) снижением активности обоих ферментов – в 1,8 раза.

Показано, что снижение глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной активности в тканях почек, а также развивающийся в дальнейшем дефицит НАДФН, могут выступить пусковым фактором реализации нефротоксических эффектов РКП [18]. Подтверждением этого является не только факт содружественного угнетения активности Г-6-ФДГ и ГР, но и также снижение ($p<0,05$) активности каталазы на 19,9%. В настоящее время установлено, что НАДФН так же является и регулятором активности этого фермента антирадикальной защиты [18].

Факт потенцирования негативных эффектов воздействия сахарного диабета и рентгеноконтрастных препаратов на активность Г-6-ФДГ заслуживает особого внимания: во-первых, наличие этого синергизма подтверждает мнение ряда авторов о влиянии СД на патогенез и частоту развития КИН [19]; во-вторых, выдвигает определенные требования к

оценке исходной степени снижения активности Г-6-ФДГ у пациентов с гипергликемией до проведения исследования с контрастом и выбору его дозы. Также известно, что определение показателей системы глутатиона в гемолизате эритроцитов предлагается использовать для диагностических целей [20, 21, 22].

Таким образом, целью следующего этапа исследования, направленного на изучение состояния системы глутатиона в эритроцитах экспериментальных животных, явилась оценка диагностических и прогностических возможностей использования изучаемых биохимических показателей при развитии КИН на фоне ЭСД.

Проведенное исследование позволило установить, что ЭСД или изолированное введение РКП вызывает, в основном, такие сдвиги в обмене глутатиона, которые можно охарактеризовать как адаптивную активацию. Применение же омнипака-300 на фоне аллоксанового диабета приводило к истощению функциональных резервов системы глутатиона в эритроцитах животных.

О сохранности возможностей системы глутатиона в эритроцитах свидетельствует отсутствие достоверных изменений концентрации ВГ, МДА и активности Г-6-ФДГ как после введения РКП или аллоксана, так и после совместного применения этих препаратов (таблица 2).

В эритроцитах крыс после применения омнипака-300 в 1,65 раза ($p < 0,05$) возрастала глутатионредуктазная активность, на 18,4% ($p < 0,05$) увеличивалась активность глутатионпероксидазы. Активность последней достоверно возрастала и в эритроцитах крыс на фоне ЭСД в 1,96 раза ($p < 0,05$). Все эти изменения характерны для активации системы глутатиона при низкой нагрузке на неё. А вот применение РКП на фоне аллоксанового диабета практически отменяло прирост активности ГР и ГП.

Кроме того, использование омнипака-300 при ЭСД сопровождалось достоверным снижением активности ГТ на 27,3% ($p < 0,05$) ниже показателей в группе интактного контроля. Примечательно, что изолированное использование ксенобиотиков практически не влияло на активность этого фермента в клетках крови. Наиболее ярко эффекты угнетающего воздействия РКП и ЭСД на активность фермента и их потенцирования при совместном введении проявились на примере каталазы. Практически 2-х кратное ($p < 0,05$) снижение активности фермента в эритроцитах происходило после использования любого из токсикантов, а их комбинация сопровождалась падением активности каталазы в 2,29 раза ($p < 0,05$).

В основе подобных изменений каталазной активности могут быть изменения тиол-дисульфидного равновесия в эритроцитах. Так, при определении концентрации СГ было установлено, что после введения омнипака-300 в дозе 10 г/кг их уровень снизился в 2 раза

($p<0,05$), а аллоксан вызывал снижение концентрации СГ в 1,7 раза ($p<0,05$). Совместное применение данных препаратов сопровождалось снижением концентрации СГ в 1,83 раза ($p<0,05$) ниже значения интактной группы. Подобная динамика изменений концентрации СГ в клетках красной крови, по-видимому, свидетельствует о существенных сдвигах тиол-дисульфидного равновесия, которые могут отразиться как на активности каталазы, так и других процессах жизнедеятельности клетки, например, на работе мембранных структур и поддержании цитоскелета.

Таблица 2.

Изменения показателей обмена глутатиона в эритроцитах белых беспородных крыс при введении неионного РКП в суточной дозе 10 г/кг на фоне экспериментального сахарного диабета.

Исследуемые показатели	Исследуемые группы			
	Контроль	ЭСД	РКП	РКП на фоне ЭСД
Восстановленный глутатион, ммоль/г	$6,39 \pm 0,09$	$6,57 \pm 0,59$	$6,64 \pm 0,49$	$6,07 \pm 0,35$
Сульфгидрильные группы, ммоль/г	$20,81 \pm 2,73$	$12,02 \pm 2,87^*$	$10,15 \pm 2,81^*$	$11,37 \pm 3,13^*$
Малоновый диальдегид, нмоль/г	$12,16 \pm 0,37$	$12,24 \pm 0,44$	$12,63 \pm 1,04$	$12,49 \pm 0,92$
Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, мкмоль/(мин • г белка)	$6,43 \pm 0,87$	$5,98 \pm 0,36$	$6,70 \pm 0,71$	$6,95 \pm 0,60$
Глутатионредуктаза, мкмоль/(мин • г белка)	$458,80 \pm 77,71$	$562,54 \pm 71,42$	$758,33 \pm 103,76^*$	$637,87 \pm 64,89$
Глутатион-S-трансфераза, мкмоль/(мин • г белка)	$212,04 \pm 12,26$	$216,44 \pm 15,27$	$197,02 \pm 20,15$	$154,10 \pm 10,97^*$
Глутатионпероксидаза ммоль/(мин • г белка)	$1,77 \pm 0,09$	$3,47 \pm 0,63^*$	$2,09 \pm 0,08^*$	$2,03 \pm 0,13$
Каталаза, мкмоль/(мин • г белка)	$20,08 \pm 6,45$	$11,28 \pm 2,86^*$	$11,94 \pm 2,09^*$	$8,77 \pm 2,37^*$

* – достоверность отличия $p<0,05$ по сравнению с группой контроля

– достоверность отличия $p<0,05$ по сравнению с группой отравленных животных

Изменения лабораторных показателей у экспериментальных животных при введении неионного РКП на фоне экспериментального сахарного диабета

Анализ лабораторных показателей функции почек (содержание креатинина, мочевины), а также концентрации глюкозы в сыворотке крови (таблица 3) у животных при моделировании КИН на фоне сахарного диабета, позволило выявить тенденцию к

увеличению содержания азотсодержащих продуктов, что косвенно может свидетельствовать о снижении функциональной активности нефронов. Отмечался достоверный ($p<0,05$) рост концентрации глюкозы в 1,84 раза у животных на фоне введения аллоксана, а также увеличение этого показателя у животных при совместном применении аллоксана и омнипака-300 в 2,07 раза ($p<0,05$).

Таблица 3.

Изменения концентрации мочевины и креатинина в сыворотке крови белых беспородных крыс при введении неионного РКП в суточной дозе 100 мг/кг на фоне экспериментального сахарного диабета

Группа исследования	Биохимические показатели		
	Глюкоза, ммоль/л	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, ммоль/л
Контроль	$4,56 \pm 0,44$	$5,75 \pm 0,41$	$31,72 \pm 0,47$
ЭСД	$8,39 \pm 0,29^*$	$5,16 \pm 0,39$	$33,30 \pm 0,78$
РКП	$4,30 \pm 0,17$	$5,96 \pm 0,42$	$32,50 \pm 0,64$
РКП на фоне ЭСД	$9,44 \pm 0,32^*$	$5,12 \pm 0,29$	$33,12 \pm 0,66$

* – достоверность отличия $p<0,05$ по сравнению с группой контроля

Таким образом, усиление повреждающего воздействия РКП на фоне сахарного диабета находит свое отражение в виде усиления нарушений обмена глутатиона. Так, у животных с экспериментальным сахарным диабетом при введении омнипака отмечаются более существенные сдвиги в виде снижения активности Г-6-ФДГ и ГР, уменьшения уровня ВГ в почечной ткани, снижения концентрации сульфгидрильных групп и активности ГТ в эритроцитах. В свою очередь исследование показателей обмена глутатиона в эритроцитах может быть использовано в целях оценки риска развития КИН у лиц с сахарным диабетом.

Обсуждение.

Данные экспериментального исследования подтверждают предположение о том, что сахарный диабет можно отнести к заболеваниям, повышающим риск развития КИН. Среди причин её развития следует рассматривать и нарушения состояния системы глутатиона. Пусковым патогенетическим фактором является суммирование угнетающего воздействия СД и РКП на активность Г-6-ФДГ и ГР в тканях почек, приводящее к снижению концентрации ВГ и нарушениям тиол-дисульфидного равновесия. Следствием

этого может стать падение активности тиол-зависимых ферментов, а затем и нарушения ряда клеточных функций (антиоксидантная защита, энергообеспечение тканей почек, состояние клеточных мембран и т.д.).

Полученные данные указывают на то, что нарушения обмена глутатиона в тканях почек и в эритроцитах лабораторных животных после применения РКП на фоне ЭСД отмечаются даже на фоне сохранения концентрации стандартных показателей оценки функции почек (мочевина и креатинин в сыворотке крови) на уровне интактного контроля. Всё это указывает на то, что изучение состояния системы глутатиона (в первую очередь, активности Г-6-ФДГ и ГР) в клетках крови является высоко чувствительными методами оценки нефротоксических эффектов действия РКП, в том числе и на фоне ЭСД, а также согласуется данными о перспективности исследований АОС для изучения патогенеза цитотоксического действия ксенобиотиков [23].

Заключение.

Использование омнипака-300 на фоне развития экспериментального (аллоксанового) сахарного диабета приводило к суммированию негативного влияния на систему глутатиона и к возникновению более глубоких нарушений в тканях почек животных, в виде достоверного ($p < 0,05$) снижения активности ГР и Г-6-ФДГ в 1,8 раза и каталазы на 20%.

Нарушение глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной и глутатионредуктазной активности в тканях почек можно рассматривать как пусковой патогенетический фактор реализации нефротоксических эффектов действия РКП.

Определение активности Г-6-ФДГ и ГР в эритроцитах представляет собой перспективный, высокочувствительный, патогенетически обоснованный лабораторный метод оценки риска возникновения и тяжести КИН, в том числе на фоне сахарного диабета.

Литература:

1. Cai Q., Jing R., Zhang W., Tang Y., Li X., Liu T. Hydration Strategies for Preventing Contrast-Induced Acute Kidney Injury: A Systematic Review and Bayesian Network Meta-Analysis // J Interv Cardiol. – 2020. – P. 1-16. doi:10.1155/2020/7292675.
2. Nijssen E., Rennenberg R., Nelemans P. et al. Prophylactic hydration to protect renal function from intravascular iodinated contrast material in patients at high risk of contrast-induced nephropathy (AMACING): a prospective, randomised, phase 3, controlled, open-label, non-

- inferiority trial //The Lancet. – 2017. – Vol. 389(10076). – P.1312-1322. doi:10.1016/s0140-6736(17)30057-0.
3. Chalikias G., Drosos I., Tziakas D. Contrast-Induced Acute Kidney Injury: An Update // Cardiovasc Drugs Ther. – 2016. – Vol. 30(2). – P.215-228. doi:10.1007/s10557-015-6635-0.
4. Haq M., Yip C., Arora P. The conundrum of contrast-induced acute kidney injury // J Thorac Dis. – 2020. – Vol. 12(4). – P.1721-1727. doi:10.21037/jtd.2019.12.88.
5. Lameire N., Kellum J. Contrast-induced acute kidney injury and renal support for acute kidney injury: a KDIGO summary (Part 2) // Critical Care. – 2013. – Vol. 17(1). – P.205. doi:10.1186/cc11455.
6. Mehran R., Dangas G., Weisbord S. Contrast-Associated Acute Kidney Injury //New England Journal of Medicine. – 2019. – Vol. 380(22). – P.2146-2155. doi:10.1056/nejmra1805256.
7. Romano G., Briguori C., Quintavalle C. et al. Contrast agents and renal cell apoptosis // Eur Heart J. – 2008. – Vol. 29(20). – P.2569-2576. doi:10.1093/eurheartj/ehn197.
8. Toprak O., Cirit M., Yesil M. et al. Metabolic Syndrome as a Risk Factor for Contrast-Induced Nephropathy in Non-Diabetic Elderly Patients with Renal Impairment // Kidney and Blood Pressure Research. – 2006. – Vol. 29(1). – P.2-9. doi:10.1159/000092481.
9. Diaz-Ricart M., Torramade-Moix S., Pascual G. et al. Endothelial Damage, Inflammation and Immunity in Chronic Kidney Disease // Toxins (Basel). – 2020. – Vol. 12(6). – P.361. doi:10.3390/toxins12060361.
10. Isaka Y., Hayashi H., Aonuma K. et al. Guideline on the use of iodinated contrast media in patients with kidney disease 2018 // Clin Exp Nephrol. – 2019. – Vol. 24(1). – P.1-44. doi:10.1007/s10157-019-01750-5.
11. Раптанова В.А., Сперанская А.А., Прошин С.Н. Контраст-индуцированные нефропатии (фармакология рентгеноконтрастных средств) // Педиатр. – 2016. – Т. 7. № 1. – С. 97-105.
12. Romano G., Briguori C., Quintavalle C. et al. Contrast agents and renal cell apoptosis // Eur Heart J. – 2008. – Vol. 29(20). – P.2569-2576. doi:10.1093/eurheartj/ehn197.
13. Жерегеля С.Н., Глушков С.И., Карпищенко А.И. Изменения показателей системы глутатиона в эритроцитах человека при введении рентгеноконтрастных препаратов в диагностических дозах // Children's Medicine of the North-West. – 2021. – Т. 9., № 1. – С. 146-147.
14. Kusirisin P., Chattipakorn S., Chattipakorn N. Contrast-induced nephropathy and oxidative stress: mechanistic insights for better interventional approaches // J Transl Med. – 2020. – Vol. 18(1). doi:10.1186/s12967-020-02574-8.

15. Медицинские лабораторные технологии: Руководство по клинической лабораторной диагностике: в 2-х т. / под ред. А.И. Карпищенко. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – Т. 1. – 792 с.
16. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике: в 2-х т. / под ред. А.И. Карпищенко. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – Т. 2. – 472 с.
17. Sylvester R. WHO handbook for reporting results of cancer treatment // Control Clin Trials. – 1980. – Vol. 1(3). – P.276-277. doi:10.1016/0197-2456(80)90009-4.
18. Stincone A., Prigione A., Cramer T. et al. The return of metabolism: biochemistry and physiology of the pentose phosphate pathway // Biological Reviews. – 2014. – Vol. 90(3). – P.927-963. doi:10.1111/brv.12140.
19. Lautin E, Freeman N, Schoenfeld A et al. Radiocontrast-associated renal dysfunction: incidence and risk factors // American Journal of Roentgenology. – 1991. – Vol. 157(1). – P.49-58. doi:10.2214/ajr.157.1.2048539.
20. Кашуро В.А., Карпищенко А.И., Куценко С.А., Глушков С.И. Возможность использования определения показателей системы глутатиона в лабораторной диагностике осложнений курсового лечения циклофосфаном // Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. – № 10. – С. 43.
21. Глушков С.И., Новикова Т.М., Аксенов В.В. Определение показателей состояния системы глутатиона в эритроцитах как диагностический прием оценки риска формирования доксорубициновой кардиомиопатии // Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова. – 2004. – Т. 2., № 1. – С. 196.
22. Кашуро В.А. Патогенетическое и диагностическое значение системы глутатиона в оценке цитотоксического действия противоопухолевых препаратов: автореф. дис.... д-ра мед. наук. – СПб., 2009. – 45 с.
23. Кашуро В.А., Долго-Сабуров В.Б., Дагаев С.Г., Батоцыренова Е.Г., Кубарская Л.Г., Аксенов В.В. Изучение роли антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в патогенезе тиопенталовой комы // Химическая и биологическая безопасность. – 2012. – № 5. – С. 3-7.