

одного місяця спостереження. Основна група пацієнтів з гіпертонічною хворобою та скаргами на порушення сну отримувала базисну антигіпертензивну терапію та мелатонін для корекції порушень сну, репрезентативна основна група порівняння отримувала лікарську терапію основної хвороби - гіпертонічної хвороби та контрольна група здорових молодих людей була вибрана для порівняння показників самооцінки здоров'я. У пацієнтів основної групи додатково проаналізовано динаміку змін у залежності від отримуваних антигіпертензивних лікарських засобів. Було встановлено зворотне відображення частоти протилежних оцінок здоров'я у хворих на гіпертонічну хворобу та в контрольній групі осіб молодого віку. Комплексна фармакотерапія окремими антигіпертензивними засобами при додатковому призначенні мелатоніну при наявності порушень протягом місяця сприяє досягненню цільових рівнів артеріального тиску та покращує показники самооцінки здоров'я. Найбільш позитивна динаміка самооцінки здоров'я досягається при використанні комбінованої антигіпертензивної терапії двома-трьма препаратами.

Ключові слова: гіпертонічна хвороба, самооцінка здоров'я.

Novosad A.V., Yakovleva O.A.

EFFECT OF ANTIHYPERTENSIVE THERAPY ON THE DYNAMICS OF SELF CARE - ASSESSMENT OF HEALTH IN THE PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION

Summary. In this article the results self-assessment of health are presented in the three groups studied and the dynamics within one month of observation. The main group of patients with hypertension and complaints of sleep disturbance basis property received antihypertensive therapy and melatonin to correct sleep disorders, the main representative comparison group received drug therapy for the underlying disease - hypertension and control group of healthy young individuals was selected for comparison of performance self-care. In the main group of patients additionally analyzed the dynamics of change depending on the received antihypertensive drugs. It was found mirror opposite frequency ratings of health in patients with hypertension and in the control group, young people. Comprehensive pharmacotherapy individual antihypertensive drugs, with additional administration of melatonin in the presence of sleep disorders within a month contribute to target levels of blood pressure and improves indices of self-care. The largest positive dynamic self-care is achieved by using combination antihypertensive therapy two or three drugs.

Key words: arterial hypertension, self care - assessment of health.

Стаття надійшла до редакції 22.09. 2011 р.

© Бурлака Є.А.

УДК: 616.611-002-036.2-053.2.

Бурлака Є.А.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (бульвар Т. Шевченка, 13, м. Київ, Україна, 01601), Каролінський інститут (Karolinska Institutet, Department of Women's and Children's Health, Q2:09 Astrid Lindgren Children's Hospital, 171 76 Stockholm, Sweden)

РОЛЬ АПОПТОЗУ В ПРОГРЕСУВАННІ ХРОНІЧНОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТУ У ДІТЕЙ

Резюме. Показано, що у дітей з хронічним гломерулонефритом важливу роль у розвитку порушень функції нефрона відіграє пошкодження його проксимального сегменту. Основним патоморфологічним субстратом при цьому є апоптоз проксимально-тубулярних клітин, який виникає в результаті порушення балансу активності про- та антиапоптозних факторів, що в подальшому призводить до тубулярної атрофії, виникнення атубулярних клубочків, прогресування порушення функції нирок. Виявлено залежність ступеня зміни балансу активності факторів системи контролю апоптозу від рівня порушення функції нирок.

Ключові слова: хронічний гломерулонефрит, прогресування, апоптоз, Vcl-xL, каспаза-3.

Вступ

Прогресування втрати функції нирок при гломерулярних захворюваннях нирок залежить від ряду факторів. Зокрема, до факторів, що прискорюють прогресування, належать гіпертензія, протеїнурія, метаболічні порушення [Remuzzi, Bertani, 1998; Iseki et al., 2003; Fioretto et al., 2006]. Протеїнурія давно була визнана в якості фактора, що безпосередньо сприяє прогресуванню пошкодження нирок, а не лише як пасивний маркер гломерулярних пошкоджень. Протеїнурія є не лише ключовим предиктором зниження швидкості клубочкової фільтрації у хворих з хронічними патологіями нирок, але й причиною тубуло-інтерстичних порушень. Основними мішенями пошкоджуючого впливу протеї-

нурії є епітеліальні клітини проксимального звивистого каналця (проксимально-тубулярні клітини).

Сучасні методи лікування гломерулярних патологій нирок, зокрема хронічного гломерулонефриту (ХГН), базуються на контролі відомих факторів ризику. Так, найбільш ефективні заходи включають, головним чином, контроль артеріальної гіпертензії та протеїнурії, зокрема блокаду ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС) та ангіотензин-перетворюючого ферменту (АПФ) та/або рецепторів ангіотензину 1 (AT1) [Praga, 2005; Ruggenti et al., 1999]. Незважаючи на ці заходи, у багатьох хворих втрата функції нирок відбувається за рахунок як прогресування гломерулярних,

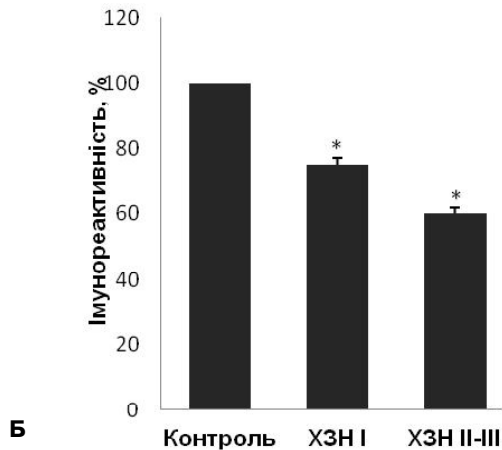
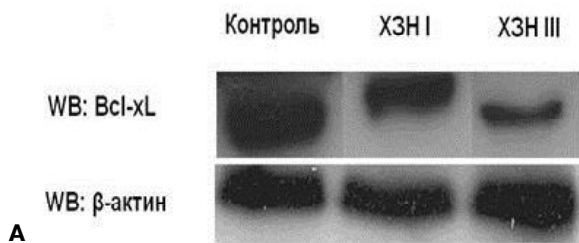


Рис. 1. Рівні антиапоптозного захисту у дітей з ХГН.
Примітки: А - рівні Bcl-xL; Б - імунореактивність Bcl-xL; * - $p < 0,05$.

так і тубулоінтерстиційних порушень під впливом протеїнурії. Дослідження молекулярних процесів, що лежать в основі порушення функції нирок під впливом протеїнурії, та морфологічних субстратів пошкодження, вимагають додаткового дослідження з метою створення нових підходів до лікування.

Матеріали та методи

Дизайн дослідження - одномоментне (cross-sectional study), об'єкт - 42 пацієнти (віком від 5 до 18 років) з активною стадією нефротичної форми ХГН, які перебували на стаціонарному лікуванні в клініці дитячої нефрології ДУ "Інститут нефрології АМН України" (клінічна база - ДКЛ №7 м. Києва) в 2009-2011 роках. Стан КФ було оцінено з використанням стандартної формули Шварца в мл/хв/1.73 м².

Залежно від стану функції нирок хворі були розподілені на групи: ХЗН I (швидкість КФ ≥ 90 мл/хв/1.73 м²) - n=25, ХЗН II-III (швидкість КФ 30-89 мл/хв/1.73 м²) - n=17. Пацієнти зі швидкістю КФ < 30 мл/хв/1.73 м² були виключені з дослідження.

Комплекс обстеження, окрім загальноприйнятих методик (огляд, моніторинг артеріального тиску, загальний і біохімічний аналізи крові, визначення добової протеїнурії, вивчення сечового осаду та концентраційної спроможності нирок, УЗД органів черевної порожнини, тощо), включав визначення показників у крові хворих, які є маркерами клітинної гіпоксії та хронічного запалення.

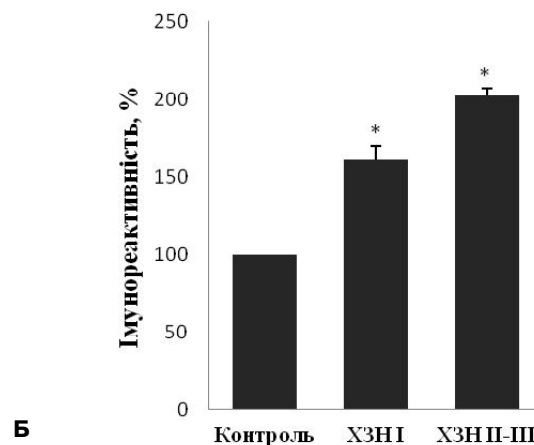
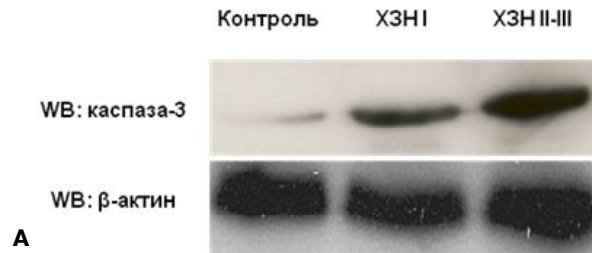


Рис. 2. Рівні активності каспази-3 у дітей з ХГН.
Примітки: А - рівні каспази-3; Б - імунореактивність каспази-3; * - $p < 0,05$.

Визначення рівнів факторів антиапоптозного захисту Bcl-xL та проапоптозного фактора каспаза-3 проводили з використанням методу Western Blotting. Для підготовки зразків плазму та суспензію нейтрофілів хворих розводили в буфері (50 мМ Tris/HCl (pH 7.4), 50 мМ NaCl, 1 мМ EDTA, 0,5 мМ дитіотреїтол, 0,5% деоксихлорат натрію, 1,5% NP-40, 1 мМ фенілметилсульфонілу флюорит) у співвідношенні 1:100. До зразка додавали інгібітори протеаз (Protease cocktail inhibitor, Roche Diagnostics, USA) в співвідношенні 1:1000 до кінцевого об'єму. Розрахунок об'єму зразків при нанесенні в гель для електрофорезу виконано з урахуванням концентрації загального білка плазми обстежених та суспензії клітин за методом Бредфорда (Bio-Rad protein assay, США).

Електрофорез зразків проводили в 12,5% поліакриламідному гелі з таким трансфером на полівінілдендифлюоридні мембрани та блокуванням мембран в 5% знежиреному молоці на TBS-T (136 мМ NaCl, 10 мМ Tris, 0,05% Tween 20). Інкубацію з первинним антитілами (Rabbit anti-caspase-3Ab, BD Transduction Laboratories, та Mouse anti-Bcl-xL Ab, Cell Signaling) у співвідношенні 1:500 проводили протягом 12 годин при температурі 4°C. В якості вторинних антитіл використовували Anti-mouse, anti-rabbit horseradish peroxidase Ab (GE Healthcare) в концентрації 1:3000 з інкубуванням протягом 1 години при кімнатній температурі. Після відмивання мембран за допомогою TBS-T проведено візуалізацію білків з використанням хеїлюмінісцентного субстрату ECL (GE

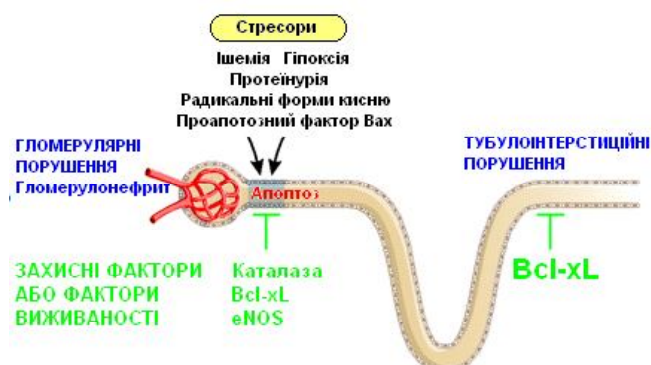


Рис. 3. Механізм прогресування порушення функції нирок за рахунок апоптозо-залежних пошкоджень нефрона.

Healthcare). Для контролю об'єму зразків, нанесених у гель при електрофорезі, використано β -актин.

Матеріал опрацьовано з використанням методів варіаційної статистики (STATISTICA 6.0) та непараметричних статистичних підходів (Mann-Whitney test). Кореляційний зв'язок між вибірками розраховували за коефіцієнтом рангової кореляції Спірмена (r). Результати представлено як $\text{Mean} \pm \text{SEM}$, статистично достовірним вважався рівень $p < 0,05$.

Результати. Обговорення

Дослідження стану антиапоптозного захисту при ХГН у дітей виявило значне зниження рівня експресії фактора Bcl-xL. При цьому ступінь інгібування антиапоптозного захисту при ХГН залежить від наявності порушення функції нирок. Так, при збереженій функції (ХЗН I ст.) експресію Bcl-xL було знижено до $75,1 \pm 2,2\%$, порівняно з контролем. При зниженні КФ (ХЗН II-III ст.) спостерігалось зниження рівня показника до $60,1 \pm 1,8\%$ ($p < 0,01$ та $p < 0,001$, відповідно, в порівнянні з групою контролю) (рис. 1).

Дослідження рівня активації проапоптозних факторів при ХГН у дітей виявило значне підвищення експресії каспази-3. При цьому ступінь активації залежить від наявності порушення функції нирок. Так, при збереженій функції (ХЗН I ст.) експресія каспази-3 була підвищена до $60,3 \pm 7,5\%$, порівняно з контролем. При зниженні КФ (ХЗН II-III ст.) спостерігалось підвищення рівня показника на $90,1 \pm 9,8\%$ ($p < 0,01$ та $p < 0,001$, відповідно, в порівнянні з групою контролю) (рис. 1).

Відомо, що протеїнурія при гломерулярних захворюваннях нирок сприяє розвитку тубулоінтерстиційних пошкоджень. Одним із механізмів пошкоджуючого впливу протеїнурії є надмірна реабсорбція білків клітинами проксимальних канальців, що може призвести до їх пошкодження й загибелі [Remuzzi, Bertani, 1998; Eddy, Giachelli, 1995; Morigi et al., 2002; Shah et al., 2007]. У відповідь на надмірну лізосомальну деградація білків або інших токсичних сполук, присутніх в ультрафільтраті, проксимально тубулярні клітини виробляють різні прозапальні і профібротичні молекули [Abbate et al., 2002; Benigni, Remuzzi, 2001; Burton et al., 1999; Kees-Folts et al., 1994].

Зокрема, такі фактори як інтерлейкін-8 (IL-8) [Tang et al., 2003], фактор некрозу пухлини- α (ФНП- α), ендотелін, TGF- β і колаген [Wohlfarth et al., 2003] сприяють розвитку проліферативних процесів, фіброзу. Початок інтерстиційного фіброзу характеризується інфільтрацією інтерстиція запальними клітинами, в основному макрофагами і Т-клітинами, які викликають активацію фібробластів. При цьому також зростає активність матричних металопротеїназ, що сприяє ре моделюванню колагена I, III і IV, ламініна і фібронектина [Eddy, Giachelli, 1995]. Збільшення синтезу компонентів і ремоделювання позаклітинного матриксу призводить до його накопичення і фіброзу, а в кінцевому підсумку до втрати функції нирок [Eddy, 2000].

Крім того, високі концентрації білка в ультрафільтраті викликають апоптоз проксимально тубулярних клітин [Erkan et al., 2001; Thomas et al., 1999]. Апоптоз проксимально тубулярних клітин займає окреме місце в патогенезі прогресування втрати функції нирок при ХГН. Активованій е проксимально тубулярних клітинах апоптоз призводить до тубулярної атрофії, виникнення атубулярних клубочків. Наявність атубулярних клубочків визначає стан зміни функції нирок з одного боку, та прогресування тубулоінтерстиційних пошкоджень, з іншого.

Причиною критичної ролі проксимально-тубулярних клітин у розвитку атубулярних клубочків є їх надзвичайна чутливість до стресових факторів. Основними факторами, що спричинюють їх пошкодження, є протеїнурія, гіпоксія, токсини. Процеси хронічного запалення, що мають місце при ХГН, супроводжуються розвитком хронічної гіпоксії. Клітинна гіпоксія при ХГН призводить до виснаження АТФ проксимально-тубулярних клітинах. Гіпоксичні зміни посилюються паралельно з прогресуванням гломерулярних (протеїнурія) та тубуло-інтерстиційних (фіброз, порушення кровотоку, епітеліально-мезенхімальна трансформація) пошкоджень. При цьому клітини проксимальних канальців за рахунок гіпоксично-активованої зміни балансу факторів про- й антиапоптозного захисту гинуть шляхом апоптозу. Узагальнена схема прогресування порушення функції нирок за рахунок апоптозо-залежних пошкоджень нефрону представлена на рисунку 3.

Крім того, компоненти зовнішньоклітинного матриксу підвищують чутливість мезангія до індукторів апоптозу, що призводить до втрати гломерулярних клітин і розвитку гломерулосклерозу (17). Взаємопосилення структурно-функціональних змін як клубочка, так і тубулярного сегмента нефрону сприяють прогресуванню втрати функції нирки, виникненню атубулярних клубочків.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Прогресування зниження функції нирок при ХГН відбувається як за рахунок гломерулярних, так і за рахунок тубуло-інтерстиційних порушень, що є вторин-

ними.

2. Важливу роль у розвитку порушення функції нефрона відіграє його проксимальний сегмент, як специфічний сенсор до пошкоджуючих факторів.

3. Основним патоморфологічним субстратом у пошкодженні проксимально-тубулярних клітин є апоптоз, що в кінцевому результаті призводить до тубулярної атрофії, виникнення атубулярних клубочків.

Дослідження молекулярних механізмів і патоморфологічних субстратів апоптозо-залежних шляхів порушення функції нирок при ХГН є перспективним напрямком з метою створення нових терапевтичних підходів з включенням засобів, спрямованих на зниження протеїнурії за рахунок відновлення структури фільтраційного бар'єра (інгібітори АПФ), модуляторів молекулярних процесів, пов'язаних із запаленням.

Список літератури

- Remuzzi G. Pathophysiology of progressive nephropathies /G.Remuzzi, T.Bertani // *N. Engl. J. Med.* - 1998. - Vol.339. - P. 1448-1456.
- Iseki K. Proteinuria and the risk of developing end-stage renal disease /K.Iseki, Y.Ikemiya, C.Iseki [et al.] // *Kidney Int.* - 2003. - Vol.63. - P. 1468-1474.
- Fioretto P. Renal protection in diabetes: role of glycemic control /P.Fioretto, M.Bruseghin, I.Berto [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* - 2006. - Vol.17. - P. 86-89.
- Praga M. Therapeutic measures in proteinuric nephropathy /M.Praga // *Kidney Int.* - 2005. - Suppl. - P. 137-141.
- Renoprotective properties of ACE-inhibition in non-diabetic nephropathies with non-nephrotic proteinuria /P.Ruggenenti, A.Perna, G.Gherardi [et al.] // *Lancet.* - 1999. - Vol.354. - P. 359-364.
- Eddy A.A. Renal expression of genes that promote interstitial inflammation and fibrosis in rats with protein-overload proteinuria /A.A.Eddy, C.M.Giachelli // *Kidney Int.* - 1995. - Vol.47. - P. 1546-1557.
- Protein overload-induced NF-kappaB activation in proximal tubular cells requires H(2)O(2) through a PKC-dependent pathway /M.Morigi, D.Macconi, C.Zoja [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* - 2002. - Vol.13. - P. 1179-1189.
- Oxidants in chronic kidney disease /S.V.Shah, R.Baliga, M.Rajapurkar [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* - 2007. - Vol.18. - P. 16-28.
- Transforming growth factor-beta1 is up-regulated by podocytes in response to excess intraglomerular passage of proteins: a central pathway in progressive glomerulosclerosis /M.Abbate, C.Zoja, M.Morigi [et al.] // *Am. J. Pathol.* - 2002. - Vol.161. - P. 2179-2193.
- Benigni A. How renal cytokines and growth factors contribute to renal disease progression /A.Benigni, G.Remuzzi // *Am. J. Kidney Dis.* - 2001. - Vol.37. - P. 21-24.
- Burton C.J. Secretion of chemokines and cytokines by human tubular epithelial cells in response to proteins /C.J.Burton, C.Combe, J.Walls [et al.] // *Nephrol Dial Transplant.* - 1999. - Vol.14. - P. 2628-2633.
- Kees-Folts D. Tubular catabolism of albumin is associated with the release of an inflammatory lipid /D.Kees-Folts, J.L.Sadow, G.F.Schreiner // *Kidney Int.* - 1994. - Vol.45. - P. 1697-1709.
- Tang S. Albumin stimulates interleukin-8 expression in proximal tubular epithelial cells in vitro and in vivo /S.Tang, J.C.Leung, K.Abe [et al.] // *J. Clin. Invest.* - 2003. - Vol.111. - P. 515-527.
- Wohlfarth V. Protein uptake disturbs collagen homeostasis in proximal tubule-derived cells /V.Wohlfarth, K.Drumm, S.Mildenberger [et al.] // *Kidney Int.* - 2003. - Suppl. - P. 103-109.
- Eddy A.A. Molecular basis of renal fibrosis /A.A.Eddy // *Pediatr. Nephrol.* - 2000. - Vol.15. - P. 290-301.
- Erkan E. Albumin overload induces apoptosis in LLC-PK(1) cells /E.Erkan, M.De Leon, P.Devarajan // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* - 2001. - Vol.280. - P.1107-1114.
- Proteinuria induces tubular cell turnover: A potential mechanism for tubular atrophy /M.E.Thomas, N.J.Brunskill, K.P.Harris [et al.] // *Kidney Int.* - 1999. - Vol.55. - P. 890-898.

Бурлака Е.А.

РОЛЬ АПОПТОЗА В ПРОГРЕССИРОВАНИИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА У ДЕТЕЙ

Резюме. Показано, что у детей с хроническим гломерулонефритом важную роль в развитии нарушений функции нефрона играет повреждение его проксимального сегмента. Основным патоморфологическим субстратом при этом является апоптоз проксимально-тубулярных клеток, который возникает в результате нарушения баланса активности про- и антиапоптотических факторов, что в дальнейшем приводит к канальцевой атрофии, возникновению атубулярных клубочков, прогрессированию нарушения функции почек. Выявлена зависимость степени изменения баланса активности факторов системы контроля апоптоза от степени нарушения функции почек.

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит, прогрессирование, апоптоз, Bcl-xL, каспаза-3.

Burlaka E.A.

ROLE OF APOPTOSIS IN CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS PROGRESSION IN CHILDREN

Summary. It is shown that in children with chronic glomerulonephritis important role in the development of dysfunction of nephron plays its proximal segment. The main pathomorphological substrate in this case is the apoptosis of proximal tubular cells, which is a result of imbalance of the activity of pro- and anti-apoptotic factors, which further leads to tubular atrophy, formation of atubular glomeruli and progression of renal dysfunction. Dependence of the degree of change in the balance of activity of factors controlling level of apoptosis on rate of renal dysfunction has been evaluated.

Key words: chronic glomerulonephritis, progression, apoptosis, Bcl-xL, caspase-3.

Стаття надійшла до редакції 06.10.2011 р.