

УРОВЕНЬ МАРКЕРОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ЛИПИДОВ И ДНК У МУЖЧИН 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

Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск

ОБОСНОВАНИЕ. Диабетическая нефропатия (ДН) — специфическое поражение почек, которым страдают до 40% пациентов с сахарным диабетом 1 типа (СД1). До сих пор имеется недостаточно знаний об активности реакций окислительного стресса у больных СД1 с разным уровнем альбуминурии.

ЦЕЛЬ. Оценить у мужчин с СД1 и разными уровнями альбуминурии уровни показателей окислительного повреждения липидов, ДНК и антиоксидантной защиты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Исследование проводилось в течение 2018–2019 гг. В основную группу были включены 56 мужчин репродуктивного возраста с СД1, разделенных на 2 группы: 24 пациента с альбуминурией уровня А1 (группа А1) и 32 пациента с альбуминурией уровня А2 (группа А2). Контрольную группу составили 28 здоровых мужчин. Произведена оценка содержания показателей окислительного стресса, а также активности различных звеньев системы антиоксидантной защиты. Использованы спектрофотометрические, флуориметрические и иммуноферментные методы исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ. У пациентов группы А1 в сравнении с контролем отмечались более высокие значения медианы первичных — диеновых конъюгатов, вторичных — кетодиенов и сопряженных триенов, конечных — шиффовых оснований продуктов липопероксидации и 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина в сравнении с контролем. Подобные изменения были выявлены также у пациентов группы А2. Межгрупповые различия касались повышенных значений медианы вторичных продуктов перекисного окисления, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, и 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина у пациентов группы А2 в сравнении с группой А1. Активность системы антиоксидантной защиты в группе А1 относительно контроля характеризовалась повышенными значениями медиан глутатионпероксидазы, восстановленного и окисленного глутатионов и ретинола. У пациентов группы А2 в сравнении с контролем отмечались более высокие значения медиан глутатионпероксидазы, восстановленного и окисленного глутатионов. Корреляционный анализ в группе А1 показал наличие тесных взаимосвязей длительности заболевания с продуктами липопероксидации, уровня гликированного гемоглобина с 8-гидрокси-2'-деоксигуанозином. В группе А2 отмечались зависимости показателей соотношения альбумин/креатинин с длительностью заболевания и скорости клубочковой фильтрации с уровнем креатинина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. У мужчин с СД1 вне зависимости от уровня альбуминурии отмечаются более высокие значения параметров окислительного повреждения липидов и ДНК, а также наличие тесных взаимосвязей этих показателей с длительностью заболевания, что может быть использовано для разработки потенциальных стратегий профилактики и ранней терапии ДН.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарный диабет 1 типа; мужчины; нефропатия; окислительный стресс; 8-гидрокси-2'-деоксигуанозин

MARKERS OF OXIDATIVE DAMAGE LIPIDS AND DNA IN MEN WITH TYPE 1 DIABETES MELLITUS AND DIFFERENT LEVELS OF ALBUMINURIA

© Marina A. Darenskaya*, Elena V. Chugunova, Sergei I. Kolesnikov, Lyudmila A. Grebenkina, Natalja V. Semenova, Olga A. Nikitina, Lyubov I. Kolesnikova

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

BACKGROUND: Diabetic nephropathy is a specific kidney damage that affects up to 40% of type 1 diabetes mellitus patients. There is still insufficient knowledge about oxidative stress at the different levels of albuminuria.

AIM: To assess the indicators of oxidative damage to lipids, DNA and antioxidant defense in men with type 1 diabetes mellitus and albuminuria different levels.

MATERIALS AND METHODS: The study was conducted during 2018–2019. The main group included 56 men of reproductive age with type 1 diabetes mellitus (T1DM) divided into 2 groups: 24 patients with albuminuria level A1 (group A1) and 32 patients with albuminuria level A2 (group A2). The control group consisted of 28 healthy men. The oxidative stress indicators content, as well as the activity of antioxidant defense system various links was evaluated. Spectrophotometric, fluorimetric and enzyme immunoassay methods were used.



RESULTS: In patients of the A1 group there were higher values of the median of primary — conjugated dienes, secondary — ketodienes and conjugated trienes, final — Schiff bases products and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in comparison with the control. Similar changes in patients of the A2 group were found. Intergroup differences related to increased median values of TBARs and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in patients of the A2 group compared with A1 group. The activity of the antioxidant defense system in A1 group relative to the control by increased values of the glutathione peroxidase, reduced glutathione, oxidized glutathione median, and retinol was characterized. A2 group had higher values of glutathione peroxidase, reduced glutathione and oxidized glutathione medians in comparison with controls. Correlation analysis in A1 group showed the relationships between the duration of the disease and the products of lipid peroxidation, glycated hemoglobin with 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine. In A2 group, there was a relationship between the albumin/creatinine ratio and the duration of the disease, glomerular filtration rate and creatinine level.

CONCLUSION: In men with T1DM, regardless of the albuminuria level, there are higher values of the oxidative damage lipids and DNA parameters, as well as the presence of close relationships between these parameters and the duration of the disease, which can be used to develop potential strategies for the prevention and early therapy of diabetic nephropathy.

KEYWORDS: type 1 diabetes mellitus; men; nephropathy; oxidative stress; 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine

ОБОСНОВАНИЕ

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 483 млн человек взрослого населения мира страдают СД и, согласно прогнозам, данная цифра к 2035 г. может возрасти почти вдвое [1]. Российская Федерация (РФ) входит в число стран-лидеров по СД. Истинная распространенность СД в РФ ориентировочно в 3–4 раза выше официальной (9–10 млн человек) [2]. Число больных СД 1 типа (СД1) в РФ составляет более 250 000 человек [3]. Наиболее опасными проявлениями СД являются хронические сосудистые осложнения, которые являются причинами ранней инвалидизации и смертности пациентов [4]. Диабетическая нефропатия (ДН) — специфическое поражение почек, которым страдают от 25 до 40% пациентов с СД [5]. 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 [6].

В связи с этим раннее обнаружение потенциально обратимых повреждений в почках является наиболее актуальной проблемой [7]. Основным методом диагностики ДН в настоящее время считается определение уровня соотношения альбумин/креатинин [5]. Однако установлено, что изменения в тканях почек у пациентов с СД имеют место уже в условиях нормальной экскреции альбумина с мочой, а повышение значений данного соотношения указывает на наличие склероза в 20–25% нефронов [8, 9]. К моменту же возникновения протеинурии 50–70% ренальной массы, как правило, подвергается склерозированию [9]. Все это диктует необходимость изучения патогенетических механизмов ранних почечных повреждений, течения и прогнозирования ДН.

Однозначно признано, что митохондриальная дисфункция способствует развитию и прогрессированию ДН [10, 11]. Митохондрии, как известно, являются основными поставщиками активных форм кислорода (АФК), повышенное накопление которых приводит к развитию

реакций окислительного стресса (ОС) [12]. В настоящее время определены основные молекулярные механизмы, ассоциированные с реакциями ОС при СД, которые связаны с метаболизмом глюкозы и липидов [13]. Это гликолитический путь, усиленное образование конечных продуктов гликозилирования, гексозаминовый путь, активация протеинкиназы C, полиоловый путь и деактивация сигнального пути инсулина [14, 15]. 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 [4, 16, 17]. Данный феномен лежит в основе так называемого механизма «метаболической памяти», основу которого составляют продукты окислительного повреждения [18]. Последние накапливаются и сохраняются в сосудах в течение длительного временного периода, что в совокупности с дополнительными патогенетическими механизмами повреждения почек приводит к развитию серьезных дисрегуляторных процессов [17]. В настоящее время доказано, что характер метаболических реакций при СД зависит от многих факторов, в том числе возраста и пола пациентов [12]. Лица молодого репродуктивного возраста, в частности мужчины, страдающие СД1, могут являться объектами более пристального внимания специалистов также по причине негативного влияния данного заболевания на репродуктивное здоровье [19]. До настоящего времени недостаточно знаний об активности реакций ОС у мужчин в зависимости от уровня альбуминурии.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель исследования — оценить у мужчин с СД1 и разными уровнями альбуминурии уровни показателей окислительного повреждения липидов, ДНК и антиоксидантной защиты.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место и время проведения исследования

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» Минобрнауки РФ, ГБУЗ «Иркутская ордена “Знак Почета” областная клиниче-

ская больница», кафедра эндокринологии ГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» (г. Иркутск).

Время исследования. Ноябрь 2018 — декабрь 2019.

Исследуемые популяции

Исучались две популяции — пациенты с СД1 и здоровые.

Популяция «пациенты с СД1»

Критерии включения: мужской пол, возраст 18–40 лет, информированное согласие пациента на участие в исследовании, проживание на территории Иркутской области, верифицированный диагноз СД1, расчетный уровень скорости клубочковой фильтрации (СКФ) ≥ 60 мл/мин/1,73 м².

Критерии исключения: СД 2-го типа/другие типы сахарного диабета, наличие тяжелых осложнений СД (протеинурии, почечной недостаточности, макрососудистых осложнений), наличие других эндокринных заболеваний, наличие выраженной сопутствующей соматической патологии, первичные поражения почек (инфекционные, сосудистые, токсические, иммуновоспалительные, опухолевые).

Популяция «здоровые»

Критерии включения: мужской пол, возраст 18–40 лет, нормальные показатели толерантности к глюкозе, отсутствие наследственной предрасположенности к СД.

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

Выборки пациентов групп А1 и А2 из популяции «пациенты с СД1» были сформированы путем сплошного включения наблюдений в соответствии с новой классификацией [20].

Дизайн исследования

Многоцентровое наблюдательное одномоментное двухвыборочное сравнительное контролируемое нерандомизированное неослепленное исследование.

Описание медицинского вмешательства (для интервенционных исследований)

Забор крови у всех участников исследования осуществляли утром натощак из локтевой вены в объеме 10 мл однократно.

Методы

При обследовании пациентов была проведена комплексная оценка клинических и лабораторных данных. Уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) определялся на анализаторе D-10 (фирма 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 ч после еды). Использованы методы оценки ранних повреждений почек (расчет СКФ, определение содержания альбумина, соотношения креатинина и альбумина в моче). Содержание альбумина и соотношение

альбумина к креатинину в моче определялись на биохимическом анализаторе SYNCHRON CX9 PRO (фирма Beckman Coulter, США) иммунотурбидиметрическим методом. СКФ рассчитывалась по формуле CKD-EPI (мл/мин/1,73 м²). В качестве материала для исследования показателей ОС использовали плазму, сыворотку и гемолизат эритроцитов. Интенсивность параметров перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию первичных продуктов — диеновых конъюгатов (ДК), вторичных — кетодиенов и сопряженных триенов (КД и СТ), конечных — шиффовых оснований (ШО) в плазме крови по методу И.А. Волчегорского (1989) [21]. Содержание вторичных продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП), в плазме крови определяли флуориметрически по методу В.Б. Гаврилова и соавт. (1987) [22]. Концентрацию показателя деструкции ДНК — 8-гидрокси-2'-деоксигуанозина (8-OHdG) в сыворотке крови измеряли с помощью коммерческого набора Assay Designs' DNA Damage ELISA Kit (США). О состоянии системы антиоксидантной защиты (АОЗ) судили по общей антиокислительной активности (АОА), активности супероксиддисмутазы (СОД) в сыворотке крови (с помощью коммерческих наборов фирмы Randox (Великобритания)), активности глутатионпероксидазы (ГПО) в эритроцитах (гемолизате) (с помощью коммерческого набора фирмы Randox (Великобритания)), а также по содержанию отдельных компонентов: α -токоферола и ретинола в плазме крови по методу Р.Ч. Черняускене и соавт. (1984) [23], восстановленного и окисленного глутатиона (GSH и GSSG) в эритроцитах (гемолизате) (метод Hisin P.J., Hilf R., 1976) [24]. Измерения проводили на спектрофлуориметре Shimadzu RF-1501 (Япония), спектрофотометре Shimadzu RF-1650 (Япония). Иммуноферментный анализ осуществляли на микропланшетном ридере MultiSkan ELX808 (Biotek, США).

Данная работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, Иркутск.

Статистический анализ

Для анализа полученных данных использовали статистический пакет — STATISTICA 6.1 Stat-Soft Inc, США. Для определения близости к нормальному закону распределения количественных признаков использовали визуально-графический метод и критерии согласия Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро–Уилка. Проверка равенства генеральных дисперсий осуществлялась с помощью критерия Фишера (F-test). Приводили описательные статистики: медиану (Me), 25-й и 75-й процентиля (Q25–Q75). При анализе межгрупповых различий для независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Для проведения корреляционного анализа использовался метод Спирмена. Критический уровень значимости принимался равным 5% (0,05).

Расчет размера выборки не выполнялся.

Этическая экспертиза

Исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике при ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Выписка из протокола заседания № 8.2 от 2.11.2018). Всеми пациентами было подписано информированное согласие.

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с сахарным диабетом 1 типа

Параметры	Контрольная группа (n=28)	Группа А1 (n=24)	Группа А2 (n=32)
Возраст, годы	29,5 (25–34)	28 (21–33,5)	30 (27–35)
Длительность СД1, годы	-	7,5 (3–11)	7,28 (3–11)
HbA _{1c} , %	-	10,75 (8,75–11,75)	11,1 (9,3–13,4)
Среднесуточная гликемия, ммоль/л	-	10,3 (8,85–12,45)	12,3 (10,3–14,8)*
Альбумин/креатинин, мг/ммоль	0,94 (0,55–1,1)	1,15 (0,3–1,6)	5,8 (3,8–8,9)*, **
Креатинин, мкмоль/л	100,9 (87,95–107,55)	80 (70–90)*	80 (80–90)*
рСКФ, мл/мин/1,73 м ²	87 (78,5–105)	114 (100–122)*	99 (89–116)**

Примечание. * — статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$); ** — статистически значимые различия между группами А1 и А2 ($p < 0,05$); СД1 — сахарный диабет 1-го типа; А1 — уровень альбуминурии 1; А2 — уровень альбуминурии 2; рСКФ — расчетная скорость клубочковой фильтрации; HbA_{1c} — гликированный гемоглобин. Данные представлены как Me (Q25–Q75).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Обследованы 56 мужчин молодого репродуктивного возраста с СД1 с неудовлетворительным гликемическим профилем, разделенных в зависимости от уровня альбуминурии на 2 группы: 24 пациента с уровнем А1 (группа А1) и 32 пациента с уровнем А2 (группа А2). Клинико-биохимическая характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в табл. 1.

Согласно полученным данным, в группе А1 зафиксированы более низкие значения медианы креатинина ($p < 0,0001$) и более высокие — медианы рСКФ ($p < 0,0001$). Группа А2 отличалась от контрольных значений также более низкими значениями медианы креатинина ($p < 0,0001$). Кроме того, в данной группе отмечались

более высокие значения соотношения альбумин/креатинин как относительно контроля ($p < 0,0001$), так и относительно группы А1 ($p < 0,0001$). Также в группе А2 относительно группы А1 регистрировался более низкий уровень медианы рСКФ ($p = 0,024$). В отношении остальных показателей статистически значимых различий в исследуемых группах выявлено не было ($p > 0,05$).

В табл. 2 представлены результаты оценки интенсивности ОС, а также активности различных звеньев системы АОЗ у пациентов с СД1. Обнаружено, что у пациентов группы А1 в сравнении с контролем отмечается более высокий уровень медианы первичных — ДК ($p < 0,0001$), вторичных — КД и СТ ($p < 0,0001$) и конечных — ШО ($p = 0,041$) продуктов ПОЛ. Медиану ТБК-АП в данной группе отличали более низкие значения относительно

Таблица 2. Показатели окислительного стресса и системы антиоксидантной защиты у пациентов с сахарным диабетом 1 типа

Параметры	Контрольная группа (n=28)	Группа А1 (n=24)	Группа А2 (n=32)
ДК, мкмоль/л	1,1 (0,87–1,54)	2,56 (1,93–3,64)*	3,04 (2,1–3,22)*
КД и СТ, усл. ед.	0,29 (0,17–0,38)	0,96 (0,7–1,12)*	0,84 (0,61–1,1)*
ТБК-активные продукты, мкмоль/л	1,69 (1,28–2,02)	1,19 (0,98–1,82)*	1,35 (0,87–1,41)*, **
ШО, мкмоль/л	0,015 (0,01–0,28)	0,03 (0,021–0,059)*	0,052 (0,034–0,067)*, **
8-OHdG, нг/мл	15,73 (10,77–18,62)	17,42 (14,35–24,13)*	25,07 (22,51–28,45)*, **
Общая антиокислительная активность, усл. ед.	1,23 (1,15–1,33)	1,21 (1,07–1,34)	1,27 (1,12–1,38)
Активность СОД, усл. ед.	204,85 (199,56–210,37)	202,73 (201,22–207,1)	205,33 (201,23–210,16)
Активность ГПО, усл. ед.	2222,5 (1944,5–2492)	2598 (2369,5–3132)*	2907 (2541–3196)*
α-Токоферол, мкмоль/л	13,84 (11,16–17,94)	13,46 (12,74–15,09)	13,94 (13,19–15,07)
Ретинол, мкмоль/л	0,41 (0,36–0,45)	0,72 (0,43–0,96)*	0,47 (0,4–0,68)**
GSH, ммоль/л	2,47 (1,72–2,66)	2,57 (2,3–4,24)*	3,4 (2,42–4,06)*
GSSG, ммоль/л	1,77 (1,47–1,83)	2,08 (2,03–2,63)*	2,39 (2,3–2,73)*

Примечание. * — статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$); ** — статистически значимые различия между группами А1 и А2 ($p < 0,05$); А1 — уровень альбуминурии 1; А2 — уровень альбуминурии 2, ГПО — глутатионпероксидаза; ДК — диеновые конъюгаты; КД и СТ — кетодиены и сопряженные триены; СД1 — сахарный диабет 1-го типа; СОД — супероксиддисмутаза; ТБК-активные продукты — продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой; ШО — шиффовы основания; GSH — восстановленный глутатион; GSSG — окисленный глутатион; 8-OHdG — 8-гидрокси-2'-деоксигуанозин. Данные представлены как Me (Q25–Q75).

контрольных значений ($p < 0,001$). Подобные изменения были зафиксированы и в группе A2: более высокая медиана ДК ($p < 0,0001$), КД и СТ ($p < 0,0001$), ШО ($p = 0,039$) и более низкая медиана ТБК-АП ($p = 0,014$) по сравнению с контролем. Также были зарегистрированы различия между группами A1 и A2 по показателю ТБК-АП, медиана которого отличалась более высокими значениями в группе A2 ($p = 0,045$). Показатель окислительной деструкции ДНК — 8-OHdG характеризовался более высокими значениями в обеих клинических группах: у пациентов группы A1 ($p = 0,048$) и A2 ($p < 0,0001$) относительно контроля. При этом в группе A2 данный показатель отличался более высокими значениями относительно группы A1 ($p = 0,002$).

Активность параметров системы АОЗ у больных СД1 выражалась различиями в ряде параметров, таких как ГПО, ретинол, восстановленная и окисленная формы глутатиона. Так, были зарегистрированы высокие значения медианы активности ГПО как в группе A1 ($p = 0,018$), так и в группе A2 ($p < 0,0001$), а также повышенные значения медианы GSH ($p < 0,0001$ и $p = 0,0003$) и GSSG ($p < 0,0001$ и $p < 0,0001$) соответственно. Медиана ретинола отличалась более высокими значениями в группе A1 ($p < 0,0001$) относительно контроля и более низкими в группе A2 ($p = 0,026$) относительно значений группы A1. В отношении остальных показателей статистически значимых различий зафиксировано не было ($p > 0,05$).

Корреляционный анализ, проведенный в группе A1, показал наличие значимых взаимосвязей длительности заболевания с продуктами ПОЛ — ДК ($r = 0,52$; $p = 0,049$), ТБК-АП ($r = 0,55$; $p = 0,035$), ШО ($r = 0,65$; $p = 0,009$), HbA_{1c} с показателем деструкции ДНК — 8-OHdG ($r = 0,55$; $p = 0,032$), рСКФ имела тесную обратную корреляцию с креатинином ($r = -0,79$; $p = 0,0001$). Группа A2 характеризовалась значимыми взаимосвязями длительности заболевания и соотношения альбумин/креатинин ($r = 0,47$; $p = 0,018$), показателя рСКФ с уровнем креатинина в крови ($r = -0,44$; $p = 0,027$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Репрезентативность выборок

Набор участников исследования проводился только в ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» Минобрнауки РФ и ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак Почета» областная клиническая больница».

Сопоставление с другими публикациями

Клинико-биохимическая характеристика исследуемых групп показала снижение уровня креатинина, а также повышение значений соотношения альбумин/креатинин и рСКФ в группах A1 и A2. В настоящее время нет однозначных взглядов относительно показателей, с высокой точностью описывающих почечную дисфункцию. Общепринятый подход предполагает оценку уровня экскреции альбумина с мочой (характеризует проницаемость почечного фильтра) и СКФ (характеризует фильтрационную функцию почек) [9]. В нашем исследовании уровень соотношения альбумин/креатинин значимо увеличивался в группе A2, что обусловлено высокими значениями альбумина и сниженными — креатинина в данной группе больных.

Показатели ОС обнаруживали практически однонаправленные изменения в обеих клинических группах. Так, значения продуктов ПОЛ увеличивались почти на всех этапах процесса липопероксидации, за исключением ТБК-АП. Убедительно доказано, что ОС является объединяющим фактором основных путей, участвующих в развитии и прогрессировании диабетических осложнений [25, 26]. В отношении ДН обоснованными считаются множественные пути, приводящие к производству АФК [27]. Избыточные количества АФК модулируют активность протеинкиназы C, митоген-активируемых протеинкиназ, различных цитокинов и факторов транскрипции, которые в конечном итоге вызывают повышенную экспрессию генов внеклеточного матрикса с прогрессированием заболевания вплоть до фиброза и терминальной стадии почечной недостаточности [28].

Активация ренин-ангиотензиновой системы при ДН способствует еще большему повреждению почечной ткани, вызванному АФК. Последние, обладая высокой реактогенной способностью, зачастую вступают в реакции с полиненасыщенными жирными кислотами, основными компонентами мембранных фосфолипидов, возникают новые цепи окисления, а в зонах наибольшей активности липопероксидации возникают каналы пассивной проницаемости для различных ионов и воды [16].

В избыточном количестве большинство продуктов ПОЛ являются высокотоксичными и оказывают повреждающее действие на структурные компоненты клетки: липопротеиды, белки, ферменты и нуклеиновые кислоты [29]. Так, гидроперекиси липидов способны ингибировать синтез ДНК, индуцировать апоптотические процессы, подавлять пролиферацию, созревание и рост клеток, вызывать мутационные изменения [29, 30]. Дальнейшими продуктами процесса ПОЛ являются альдегиды и кетоны, важная роль которых заключается в синтезе простагландинов и ряда стероидов. В результате взаимодействия диальдегидов со свободными группами мембранных соединений образуются конечные продукты ПОЛ (ШО), накопление которых дестабилизирует мембраны и способствует деструкции клеток [29].

Возрастание уровня токсичных продуктов ПОЛ, как правило, свидетельствует о быстром вовлечении процессов ПОЛ в патогенетические механизмы развивающихся структурно-функциональных нарушений в клетках органов и тканей.

В данном исследовании установлено увеличение токсичных продуктов — ШО в группе A1, причем более интенсивное в группе A2, что может служить неблагоприятным признаком развития заболевания. Полученные данные согласуются с ранее проведенными исследованиями, свидетельствующими о росте значений продуктов ПОЛ с увеличением интенсивности экскреции альбумина с мочой [6, 14, 15].

Нами было обнаружено значительное увеличение показателя деструкции ДНК — 8-OHdG в группах A1 и A2 относительно контрольных значений. В настоящее время известно, что окисление ДНК связано с широким спектром повреждений, включая клеточное старение и апоптоз [31]. 8-OHdG является модифицированным нуклеозидным основанием, побочным продуктом повреждения ДНК. Установлена тесная взаимосвязь между концентрацией 8-OHdG и хроническими заболеваниями

почек или терминальной почечной недостаточностью по сравнению со здоровыми людьми в общей популяции [15]. В отношении больных с СД1 получены данные, свидетельствующие о сильных и независимых ассоциациях высоких концентраций 8-OHdG в плазме с уровнем альбуминурии и рСКФ на исходном уровне, а также о риске развития терминальной почечной недостаточности в двух проспективных когортах участников с СД1, наблюдавшихся в течение 6 лет [31]. Эти данные указывают на возможность потенциального использования определения 8-OHdG в плазме в качестве биомаркера прогрессирования заболевания почек у лиц с СД1. Данные экспериментальных исследований также подтвердили, что повышенная продукция митохондриальной ДНК в эндотелиальных клетках клубочков и повышенная секреция с мочой 8-OHdG ответственны за ранние повреждения эндотелия [15, 32]. Проведение биопсии почек у больных СД и прогрессирующим заболеванием почек показало сходные результаты [31]. Таким образом, повышение уровня 8-OHdG в крови пациентов группы А1 может служить маркером неблагоприятного течения СД, в условиях же А2 данный показатель может служить отражением потенциальной роли окислительных повреждений ДНК в развитии ДН.

Указанные изменения, как правило, возникают тогда, когда система АОЗ не способна нейтрализовать токсическое действие АФК. В нашем исследовании не было установлено различий в уровне показателей общей АОА, α -токоферола и активности СОД у пациентов обеих групп с СД1. Однако отмечались более высокие значения активности ГПО, а также восстановленной и окисленной фракций глутатиона в группах А1 и А2 относительно контроля. ГПО обнаруживается в цитозоле и митохондриях, осуществляет разложение гидроперекисей, а также утилизирует большую часть перекисей фосфолипидов и жирных кислот посредством окисления глутатиона [33]. GSH является ключевым внутриклеточным антиоксидантом, участвует в биохимических превращениях витаминов и других соединений, регуляции тиол-дисульфидного равновесия и синтеза нуклеиновых кислот, обмену эйкозаноидов и др. [34]. Одной из важнейших его функций считается способность к перестройке дикарбонильных соединений в гидрокислоты, то есть детоксицирующая функция [34, 35]. В целом в литературе отмечаются противоречивые данные об активности антиоксидантных ферментов у пациентов с СД1, активность которых зависела от уровня гликемического контроля, продолжительности заболевания, сопутствующих осложнений и т.д. [33, 35].

Проведенный корреляционный анализ в группе А1 показал наличие взаимосвязи длительности заболевания с продуктами липопероксидации, что отражает роль данных компонентов в повреждении почечных структур, усиливающимся с течением заболевания. Показатель гликирования — HbA_{1c} находился в тесной связи с 8-OHdG, что указывает на значимость гипергликемии в механизмах повреждения ДНК и также подтверждается результатами других исследований [31]. Группа А2 характеризовалась значимыми взаимосвязями длительности заболевания с основными диагностическими маркерами почечных повреждений. Имеются литературные данные,

подтверждающие взаимосвязь указанных показателей между собой [36].

Клиническая значимость результатов

Полученные результаты могут вносить определенный вклад в профилактику ДН у мужчин — пациентов с СД1.

Ограничения исследования

Настоящее исследование выполнено на небольшой когорте пациентов без длительного периода наблюдения.

Направления дальнейших исследований

В дальнейшем наиболее целесообразными представляются расширение спектра исследуемых показателей ОС, исследование их взаимосвязей с показателями почечного повреждения, а также выявление наиболее значимых показателей, которые позволят разработать мероприятия по профилактике прогрессирования почечных повреждений у больных с СД1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Можно констатировать, что у мужчин с СД1 вне зависимости от уровня альбуминурии регистрируются окислительные повреждения основных структурных компонентов клетки — липидов и ДНК. Данные нарушения касаются и стадии А1, когда ярко выраженных изменений функционирования почечных структур еще не происходит. Это подтверждает мнение о том, что даже на ранних стадиях заболевания создаются условия для активизации синтеза АФК и прогрессирования диабетических осложнений, что может быть использовано для разработки потенциальных стратегий профилактики и терапии развития ДН.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Исследование выполнено в рамках государственной бюджетной темы ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» «Патофизиологические механизмы и генетико-метаболические предикторы сохранения репродуктивного здоровья и долголетия в различных возрастных, гендерных и этнических группах» № 121022500180-6.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.

Участие авторов. Даренская М.А. — концепция и дизайн исследования, статистическая обработка и анализ результатов, написание и редактирование текста; Чугунова Е.В. — обследование пациентов, сбор и обработка клиничко-лабораторных данных, анализ статистических данных, написание текста; Колесников С.И. — концепция и дизайн исследования, анализ результатов, написание и окончательное редактирование текста; Гребенкина Л.А. — сбор и обработка клиничко-лабораторных данных; Семенова Н.В. — анализ результатов, сбор и обработка клиничко-лабораторных данных; Никитина О.А. — получение, сбор и обработка клиничко-лабораторных данных; Колесникова Л.И. — концепция и дизайн исследования, анализ результатов, написание и редактирование текста. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- International Diabetes Atlas, 2019.
- Дедов И.И., Шестакова М.В., Вилулова О.К., и др. Сахарный диабет в Российской Федерации: распространенность, заболеваемость, смертность, параметры углеводного обмена и структура сахароснижающей терапии по данным Федерального регистра сахарного диабета, статус 2017 г. // *Сахарный диабет*. — 2018. — Т. 21. — №3. — С. 144-159. [Dedov II, Shestakova MV, Vikulova OK, et al. Diabetes mellitus in the Russian Federation: prevalence, morbidity, mortality, parameters of carbohydrate metabolism and the structure of hypoglycemic therapy according to the Federal Register of Diabetes Mellitus, status 2017. *Diabetes mellitus*. 2018;21(3):144-159. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/DM9686>
- Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю., и др. Сахарный диабет 1 типа у взрослых // *Сахарный диабет*. — 2020. — Т. 23. — №51. [Dedov II, Shestakova MV, Mayorov AYU, et al. Type 1 diabetes mellitus in adults // *Diabetes mellitus*. 2020;23(51). (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/DM2351>
- Paul S, Ali A, Katara R. Molecular complexities underlying the vascular complications of diabetes mellitus – A comprehensive review. *J Diabetes Complications*. 2020;34(8):107613. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2020.107613>
- Selby NM, Taal MW. An updated overview of diabetic nephropathy: Diagnosis, prognosis, treatment goals and latest guidelines. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2020;22:3-15. doi: <https://doi.org/10.1111/dom.14007>
- Sagoo MK, Gnudi L. Diabetic nephropathy: an overview. *Diabetic Nephropathy*. 2020;3-7. doi: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9841-8_1
- Шукина А.А., Бобкова И.Н., Шестакова М.В., и др. Экскреция с мочой маркеров повреждения подоцитов у больных сахарным диабетом // *Терапевтический архив*. — 2015. — Т. 87. — №10. — С. 62-66. [Shchukina AA, Bobkova IN, Shestakova MV, et al. Urinary excretion of markers of podocyte damage in patients with diabetes. *Therapeutic archive*. 2015;87(10):62-66. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.17116/terarkh2015871062-66>
- Шестакова М.В., Шамхалова М.Ш., Ярек-Мартынова И.Я., и др. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек: достижения, нерешенные проблемы и перспективы лечения // *Сахарный диабет*. — 2011. — Т. 14. — №1. — С. 81-88. [Shestakova MV, Shamkhalova MSh, Yarek-Martynova IYa, et al. Diabetes mellitus and chronic kidney disease: achievements, unresolved problems and treatment prospects. *Diabetes mellitus*. 2011;14(1):81-88. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/2072-0351-6254>
- Шестакова М.В. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек: возможности прогнозирования, ранней диагностики и нефропротекции в XXI веке // *Терапевтический архив*. — 2016. — Т. 88. — № 6. — С. 84-88. [Shestakova MV. Diabetes mellitus and chronic kidney disease: possibilities of prediction, early diagnosis and nephroprotection in the XXI century. *Therapeutic archive*. 2016;88(6):84-88. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.17116/terarkh201688684-88>
- Yang S, Han Y, Liu J, et al. Mitochondria: a novel therapeutic target in diabetic nephropathy. *Current medicinal chemistry*. 2017;24(29):3185-3202. doi: <https://doi.org/10.2174/0929867324666170509121003>
- Saxena S, Mathur A, Kakkar P. Critical role of mitochondrial dysfunction and impaired mitophagy in diabetic nephropathy. *Journal of cellular physiology*. 2019;234(11):19223-19236. doi: <https://doi.org/10.1002/jcp.28712>
- Колесникова Л.И., Даренская М.А., Колесников С.И. Свободнорадикальное окисление: взгляд патофизиолога // *Бюллетень сибирской медицины*. — 2017. — Т. 16. — №4. — С. 16-29. [Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Kolesnikov SI. Free radical oxidation: a pathophysiological view. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017;16(4):16-29. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2017-4-16-29>
- Yaribeygi H, Sathyapalan T, Atkin SL, Sahebkar A. Molecular Mechanisms Linking Oxidative Stress and Diabetes Mellitus. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020:1-13. doi: <https://doi.org/10.1155/2020/8609213>
- Lassén E, Daehn IS. Molecular Mechanisms in Early Diabetic Kidney Disease: Glomerular Endothelial Cell Dysfunction. *Int J Mol Sci*. 2020;21(24):9456. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21249456>
- Vodošek Hojs N, Bevc S, Ekart R, et al. Oxidative stress markers in chronic kidney disease with emphasis on diabetic nephropathy. *Antioxidants*. 2020;9(10):925. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox9100925>
- Turpin C, Catan A, Guerin-Dubourg A, et al. Enhanced oxidative stress and damage in glycated erythrocytes. *PLoS One*. 2020;15(7):e0235335. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235335>
- Ларина И.И., Северина А.С., Шамхалова М.Ш., и др. Осложнения хронической болезни почек у пациентов с сахарным диабетом 1 типа после сочетанной трансплантации почки и поджелудочной железы-потенциальная роль окислительного стресса и конечных продуктов гликирования // *Сахарный диабет*. — 2019. — Т. 22. — №5. — С. 405-416. [Larina II, Severina AS, Shamkhalova M Sh, et al. Complications of chronic kidney disease in patients with type 1 diabetes mellitus after combined kidney and pancreas transplantation — the potential role of oxidative stress and end glycation products. *Diabetes mellitus*. 2019;22(5):405-416. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/DM10312>
- Черников А.А., Северина А.С., Шамхалова М.Ш., Шестакова М.В. Роль механизмов «метаболической памяти» в развитии и прогрессировании сосудистых осложнений сахарного диабета // *Сахарный диабет*. — 2017. — Т. 20. — №2. — С. 126-134. [Chernikov AA, Severina AS, Shamkhalova MSh, Shestakova MV. The role of metabolic memory mechanisms in the development and progression of vascular complications of diabetes mellitus. *Diabetes mellitus*. 2017;20(2):126-134. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/7674>
- Григорян О.Р., Андреева Е.Н., Дедов И.И. Персонализированный подход к проблеме репродуктивного здоровья при эндокринопатиях // *Терапевтический архив*. — 2018. — Т. 90. — № 4. — С. 81-84. [Grigoryan OR, Andreeva EN, Dedov II. Personalized strategies in reproductive medicine for patients with endocrine disorders. // *Therapeutic archive*. 2018;90(4):81-84. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.26442/terarkh201890481-84>
- Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю., и др. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом: Клинические рекомендации (Вып. 9) // *Сахарный диабет*. — 2019. — Т. 22. — №51. — С. 1-144. [Dedov II, Shestakova MV, Mayorov AYU, et al. Standards of specialized diabetes care. *Diabetes Mellitus*. 2019;22(51):1-144 (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/DM22151>
- Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., и др. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // *Вопросы медицинской химии*. — 1989. — Т. 35. — №1. — С. 127-131. [Volchegorskiy IA, Nalimov AG, Yarovinskiy BG, et al. Comparison of different approaches to the determination of lipid peroxidation products in heptane-isopropanol extracts of blood. *Questions of medicinal chemistry*. 1989;35(1):127-131. (In Russ.)].
- Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // *Вопросы медицинской химии*. — 1987. — Т. 33. — №1. — С. 118-122. [Gavrilov VB, Gavrilova AR, Mazhul LM. Analysis of methods for determining the products of lipid peroxidation in blood serum by the test with thiobarbituric acid. *Questions of medicinal chemistry*. 1987;33(1):118-122. (In Russ.)].
- Черняускене Р.Ч., Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С. Одновременное определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови // *Лабораторное дело*. — 1984. — № 6. — С. 362-365. [Chernyauskene RCh, Varskevichene ZZ, Grybauskas PS. Simultaneous determination of the concentrations of vitamins E and A in blood serum. *Laboratorное delo*. 1984;6:362-365. (In Russ.)].
- Hisin PJ, Hilf R. Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal. Biochem*. 1976;74:214-226.
- Kolesnikova LI, Shemyakina NA, Namokonov EV, et al. Some parameters of carbonyl and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus and macroangiopathy of the lower extremities. *Diabetes Technol. Therapeutics*. 2019;21(51):46.
- Kolesnikova LI, Vlasov BY, Kolesnikov SI, et al. Intensity of oxidative stress in Mongoloid and Caucasian patients with type 1 diabetes mellitus. *Bull. Exp. Biol*. 2016;161(6):767-769. doi: <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3505-0>

27. Victor P, Umapathy D, George L, et al. Crosstalk between endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the progression of diabetic nephropathy. *Cell Stress and Chaperones*. 2021;26(2):311-321. doi: <https://doi.org/10.1007/s12192-020-01176-z>
28. Charlton A, Garzarella J, Jandeleit-Dahm KA, et al. Oxidative stress and inflammation in renal and cardiovascular complications of diabetes. *Biology*. 2021;10(1):18. doi: <https://doi.org/10.3390/biology10010018>
29. Sies H, Jones DP. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2020;21(7):363-383. doi: <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>
30. Даренская М.А., Колесникова Л.И., Колесников С.И. Окислительный стресс: патогенетическая роль в развитии сахарного диабета и его осложнений, терапевтические подходы к коррекции // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. — 2021. — Т. 171. — №2. — С. 136-149. [Darenskaya MA, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. Oxidative stress: pathogenetic role in the development of diabetes mellitus and its complications, therapeutic approaches to correction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021;171(2):136-149. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.47056/0365-9615-2021-171-2-136-149>
31. Sanchez M, Roussel R, Hadjadj S, et al. Plasma concentrations of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and risk of kidney disease and death in individuals with type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2018;61:977-984. doi: <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4510-1>
32. Qi H, Casalena G, Shi S, et al. Glomerular endothelial mitochondrial dysfunction is essential and characteristic of diabetic kidney disease susceptibility. *Diabetes*. 2017;66:763-778. doi: <https://doi.org/10.2337/db16-0695>
33. Чистякова О.В., Сухов И.Б., Шпаков А.О. Роль окислительного стресса и антиоксидантных ферментов в развитии сахарного диабета // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. — 2017. — Т. 103. — №9. — С. 987-1003. [Chistyakova OV, Sukhov IB, Shpakov AO. The role of oxidative stress and antioxidant enzymes in the development of diabetes mellitus. *I.M. Sechenov Physiological Journal*. 2017;103(9):987-1003. (In Russ.)].
34. Marí M, de Gregorio E, de Dios C, et al. Mitochondrial glutathione: recent insights and role in disease. *Antioxidants*. 2021;9(10):909. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox9100909>
35. Silvagno F, Vernone A, Pescarmona GP. The role of glutathione in protecting against the severe inflammatory response triggered by COVID-19. *Antioxidants*. 2020;9(7):624. doi: <https://doi.org/10.3390/antiox9070624>
36. Bebu I, Braffett BH, Schade D, et al. An observational study of the equivalence of age and duration of diabetes to glycemic control relative to the risk of complications in the combined cohorts of the DCCT/EDIC study. *Diabetes care*. 2020;43(10):2478-2484. doi: <https://doi.org/10.2337/dc20-0226>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Даренская Марина Александровна**, д.б.н. [Marina A. Darenskaya, PhD in Biology]; адрес: Россия, 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16 [address: 16 Timiryazeva street, 664003, Irkutsk, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3255-2013>; Researcher ID: O-4490-2015; Scopus Author ID: 55453341400; eLibrary SPIN: 3327-4213; e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru

Чугунова Елена Владимировна [Elena V. Chugunova, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2546-6320>; eLibrary SPIN: 9598-2823; e-mail: e.v_chugunova@mail.ru

Колесников Сергей Иванович, д.м.н., профессор, академик РАН [Sergey I. Kolesnikov, MD, PhD, Professor, Member of the RAS]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>; eLibrary SPIN: 1752-6695; e-mail: sikolesnikov1@rambler.ru

Гребенкина Людмила Анатольевна, д.б.н. [Lyudmila A. Grebenkina, PhD in Biology]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1263-5527>; eLibrary SPIN: 6194-5785; e-mail: greblud@mail.ru

Семенова Наталья Викторовна, д.б.н. [Natalja V. Semenova, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>; eLibrary SPIN: 6606-0160; e-mail: natkor_84@mail.ru

Никитина Ольга Андреевна, к.б.н. [Olga A. Nikitina, PhD in Biology]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1926-9694>; eLibrary SPIN: 1799-4973; e-mail: olga_tolpygina@mail.ru

Колесникова Любовь Ильинична, д.м.н., профессор, академик РАН [Lyubov I. Kolesnikova, MD, PhD, Professor, Member of the RAS]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3354-2992>; eLibrary SPIN: 1584-0281; e-mail: kolesnikova20121@mail.ru

ЦИТИРОВАТЬ:

Даренская М.А., Чугунова Е.В., Колесников С.И., Гребенкина Л.А., Семенова Н.В., Никитина О.А., Колесникова Л.И. Уровень маркеров окислительного повреждения липидов и ДНК у мужчин с сахарным диабетом 1 типа и разным уровнем альбуминурии // *Сахарный диабет*. — 2022. — Т. 25. — №2. — С. 120-127. doi: <https://doi.org/10.14341/DM12765>

TO CITE THIS ARTICLE:

Darenskaya MA, Chugunova EV, Kolesnikov SI, Grebenkina LA, Semenova NV, Nikitina OA, Kolesnikova LI. Markers of oxidative damage lipids and DNA in men with type 1 diabetes mellitus and different levels of albuminuria. *Diabetes Mellitus*. 2022;25(2):120-127. doi: <https://doi.org/10.14341/DM12765>