

© И.Н.Бобкова, А.А.Щукина, М.В.Шестакова, 2017
УДК 616.379 – 008.64 : 616.633

И.Н. Бобкова^{1,2}, А.А. Щукина², М.В. Шестакова³

ОЦЕНКА УРОВНЕЙ НЕФРИНА И ПОДОЦИНА В МОЧЕ У БОЛЬНЫХ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

¹Научно-исследовательский отдел нефрологии Научно-исследовательского центра Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, ²кафедра нефрологии и гемодиализа Института профессионального образования Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, ³Эндокринологический научный центр Института диабета, Москва, Россия

I.N. Bobkova^{1,2}, A.A. Shchukina², M.V. Shestakova³

ASSESSMENT OF NEPHRIN AND PODOCIN LEVELS IN THE URINE OF PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS

¹ Nephrology department of Research Centre of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, ² Department of nephrology and hemodialysis of Professional education Institute of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, ³ Endocrinology Research Centre of Institute of diabetes, Moscow, Russia

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ: определить величину экскреции с мочой маркеров подоцитарного повреждения и уточнить их значение для ранней диагностики диабетической нефропатии (ДН) у больных с сахарным диабетом (СД) с разной выраженностью альбуминурии/протеинурии. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Обследовано 74 больных с СД (30 СД 1 и 44 СД 2 типа), которые были разделены на 3 группы: I группа (n=41) – с альбуминурией (АУ) <30 мг/г креатинина мочи (А1), II группа (n=13) – с АУ 30–300 мг/г (А2), III группа (n=20) – с протеинурией (ПУ). ХБП-С1 выявлена у 41 пациента, ХБП-С2 у 25, ХБП-С3 у 8 человек. Артериальная гипертензия наблюдалась у 52 из 74 (70%) обследованных, преимущественно при СД2. Контроль – 10 здоровых. В моче иммуноферментным методом определены уровни структурных белков подоцитов – нефрина и подоцина. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Нефринурия (НУ) >5,84 нг/мл/г, не встречающаяся у здоровых, выявлялась у 63% пациентов I гр., у 77% – II гр. и у 80% – III гр. Подоцинурия (ПДУ) >1,73 нг/мл/г выявлялась у 78% пациентов I гр., у 54% – II гр. и у 83% – III гр. НУ у больных с ПУ была достоверно выше, чем при АУ<30 мг/г. ПДУ в подгруппах с разной АУ/ПУ была одинаково высокой и не различалась между типами СД. Выявлена прямая корреляция НУ с АУ (R=0,947, p<0,05). Показатели НУ и ПДУ прямо коррелировали с сывороточным креатинином (R=0,489, p<0,05 и R=0,468, p<0,05) и обратно с СКФ (R=-0,461, p<0,05 и R=-0,36, p<0,05). При длительности СД менее 5 лет НУ прямо коррелировала с HbA1c, а у больных СД 2 – обратно с систолическим АД. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Определение уровней в моче нефрина и подоцина может использоваться для ранней диагностики и мониторинга течения ДН.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая нефропатия, альбуминурия, протеинурия, повреждение подоцитов, нефринурия, подоцинурия.

ABSTRACT

THE AIM: to assess excretion value of podocytes injury biomarkers in urine and to clarify their significance for early diabetic nephropathy (DN) diagnostics in diabetes mellitus (DM) patients with different severity of albuminuria (AU)/proteinuria (PU). **PATIENTS AND METHODS.** 74 DM pts were studied, including 30 with type1 DM (T1DM) and 44 pts with type2 DM (T2DM). They were divided into three groups: 41 pts with AU <30 mg/gCr (A1), 13 pts with AU 30-300 mg/gCr (A2), 20 pts with PU (A3). CKD S1 was revealed in 41pts, CKD S2 – in 25 pts, CKD S3 – in 8 pts. Arterial hypertension was observed in 52 pts of 74(70%), mainly in T2DM. 10 healthy subjects were studied as control. Urinary levels of nephrin and podocin (an important slit diaphragm proteins) were measured by ELISA. **RESULTS.** Nephrinuria (NU) >5,84ng/ml/g, which not detecting in controls, was revealed in 63% of A1 pts, in 77% – in A2, in 80% – in A3. Podocinuria (PdU)>1,73ng/ml/g was revealed in 78% of A1 pts, in 54% of A2 and in 83% – A3. NU in pts with PU was significantly higher than in AU<30 mg/g. PDU in groups with different AU/PU was equally high and has no differ between DM types. Direct correlation was obtained between NU and AU (R=0,947 p<0,05). NU and PdU in T1DM correlated directly with serum creatinine (R=0,489 p<0,05 and R=0,468 p<0,05) and indirectly with GFR (R=-0,461 p<0,05 and R=-0,36 p<0,05). In DM duration less than 5 years NU directly correlated with HbA1c level, in T2DM – indirectly with systolic blood pressure. **CONCLUSION.** Nephrin and podocin levels can be useful for early diagnostics and monitoring of DN.

Key words: diabetes mellitus, diabetic nephropathy, albuminuria, proteinuria, podocytes injury, nephrinuria, podocinuria.

Бобкова И.Н. 119991, Россия, Москва, ул. Трубцкая, д. 8, стр. 2.
Первый Московский государственный медицинский университет им.
И.М. Сеченова; отдел нефрологии научно-исследовательского центра,
кафедра нефрологии и гемодиализа Института профессионального
образования. Тел.: 8(499)-248-41-66, E-mail: irbo.mma@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Во многих развивающихся и в большинстве развитых стран мира наблюдается стремительный рост заболеваемости сахарным диабетом (СД), что позволило в настоящее время говорить о пандемии этой болезни. Так, по опубликованному в 2015 г. данным Международной федерации диабета (IDF), в мире 415 миллионов людей в возрасте 20–79 лет страдают СД, через 20 лет прогнозируют увеличение этого количества до 640 миллионов (на 55%) [1]. Согласно Российскому Государственному регистру больных с СД, на январь 2015 г. в нашей стране по обращаемости в лечебные учреждения насчитывается 4095 миллиона больных, что составляет 2,8% населения РФ [2]. За последние 5 лет распространенность СД в РФ увеличилась на 23%, главным образом за счет СД 2-го типа, причем более чем у половины этих больных СД ранее не был диагностирован [2, 3]. Между тем, результаты контрольно-эпидемиологических исследований, проведенных ФГБУ Эндокринологический научный центр, показали, что истинная распространенность СД в России, выявленная в разных возрастных группах при активном скрининге, приблизительно в 2–3 раза превышает официально зарегистрированную, что составляет около 10 миллионов человек (7% населения нашей страны) [4]. Россия входит в десятку стран-лидеров по заболеваемости СД, занимая в этом рейтинге пятую позицию [1].

Одним из наиболее опасных последствий СД, причиной инвалидизации и высокой смертности является диабетическая нефропатия (ДН), занимающая ведущие позиции в структуре терминальной почечной недостаточности (тПН) у больных на заместительной почечной терапии [1, 5]. В России при общей заниженной частоте регистрируемых осложнений СД распространенность нефропатии недооценивается особенно серьезно. Так, при активном скрининге у больных СД 2-го типа частота выявления ДН в 6 раз превысила регистрируемую в общей популяции СД 2-го типа [2].

Значительная распространенность СД, высокий риск развития и тяжесть связанных с этим заболеванием сосудистых осложнений (в частности ДН), растущее бремя финансовых затрат на их лечение, бесспорно, представляют серьезные проблемы для здравоохранения разных стран. В этой связи особую актуальность приобретает раннее выявление нефропатии с целью своевременного начала нефропротекции и отдаления развития тПН.

Единственным используемым в рутинной практике методом ранней диагностики ДН яв-

ляется определение уровня альбуминурии (АУ). Было показано, что АУ коррелирует с выраженностью морфологических изменений в почках [6]. Экскреции альбумина с мочой в количестве от 30 до 300 мг/сут (30–300 мг/г креатинина мочи), ранее называемая микроальбуминурией (МАУ), длительное время считалась маркером, отражающим начальные функциональные и структурные изменения в почке при СД. Однако проведенные к настоящему времени исследования доказали, что характерные для СД экспансия мезангия, увеличение толщины гломерулярной базальной мембраны и объема клубочков обнаруживаются и при меньших значениях АУ (<30 мг/сут или <30 мг/г креатинина мочи); при МАУ эти изменения более выражены, и в части клубочков уже может выявляться гломерулосклероз, появление же стойкой протеинурии (ПУ) свидетельствует о потере около 50–70% клубочков [5–8]. Градация АУ и определение ее диагностического уровня стали предметом длительной дискуссии. Согласно современным международным и отечественным рекомендациям, при сохранении прежних численных значений МАУ сегодня называют «высокой АУ» (подчеркивая, что это уже клинически значимый, а не самый ранний признак), для уровня АУ <30 мг/сут, традиционно считавшегося «нормоальбуминурией», предложено определение «повышенная АУ», «оптимальной» считают АУ <10 мг/сут [8–10]. Анализ рандомизированных исследований (HOPE, LIFE, Framingham Heart Study и др.) показал, что МАУ и так называемая «low-grade albuminuria», как отражение генерализованной дисфункции эндотелия сосудов, тесно связаны с повышением риска развития сердечно-сосудистых катастроф и смертности от любых причин даже в популяции населения без СД и артериальной гипертензии (АГ). Поэтому значимость повышения АУ для диагностики субклинического течения ДН далеко не абсолютна. Все вышеизложенное определяет актуальность поиска более информативных и специфичных ранних маркеров поражения почек при СД.

Цель исследования: определить величину экскреции с мочой структурно-функциональных белков подоцитов (нефрина и подоцина) и уточнить значение данных мочевых показателей как ранних маркеров субклинического течения ДН у больных с СД с разной степенью выраженности АУ/ПУ.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 74 пациента с диагнозом СД, в том числе, 30 – с СД 1-го типа и 44 – с

СД 2-го типа, из них 37 (50%) мужчин, 37 (50%) женщин в возрасте от 18 до 80 лет. Средний возраст больных с СД 1-го типа составил $36,9 \pm 17$ лет, длительность основного заболевания – $18,4 \pm 13$ лет. Средний возраст обследуемых с СД 2-го типа составил $60,5 \pm 10$ лет, длительность заболевания – $11,5 \pm 7,5$ лет. Пациенты находились на обследовании и лечении в ФГБУ Эндокринологический научный центр (ЭНЦ) МЗ РФ, в клинике нефрологии, внутренних и профессиональных заболеваний им. Е.М. Тареева ПМГМУ им. И.М. Сеченова. В группу контроля вошли 10 здоровых добровольцев (4 мужчины, 6 женщин в возрасте от 19 до 77 лет).

Из исследования исключали пациентов: с декомпенсированным СД (уровень гликозилированного гемоглобина $HbA1c > 10\%$); ПУ более 2 г/сут; выраженной дисфункцией почек (СКФ < 15 мл/мин/1,73 м²); острым воспалительным заболеванием любой этиологии на момент исследования; острым или хроническим гломерулонефритом; ишемической болезнью почек; онкологической патологией, системными васкулитами, амилоидозом, сердечной недостаточностью III–IV ст. (по NYHA), острым нарушением мозгового кровообращения, тяжелой артериальной гипертензией 3 степени, беременных.

Всем больным было выполнено клиническое обследование, включавшее сбор анамнеза, осмотр с определением индекса массы тела (ИМТ, кг/м²), общеклинические анализы крови и мочи, концентрации альбумина в утренней порции мочи иммунотурбидиметрическим методом, рассчитано соотношение концентрации альбумина к креатинину мочи (мг/г креатинина мочи), в сыворотке крови оценены концентрация глюкозы, уровень $HbA1c$, креатинина, произведен расчет СКФ по формуле СКД-ЕРІ, выполнено УЗИ почек для оценки их размеров и исключения аномалии развития, нефролитиаза.

Специальным методом исследования явилось определение в утренней порции мочи уровня структурно-функциональных белков подоцитов – нефрина (n=74) и подоцина (n=70) – с помощью наборов для иммуноферментного анализа («ELISA Kit») производства «CUSABIO» (China) с расчетом концентрации на единицу креатинина мочи в исследованном образце.

Результаты исследования маркеров подоцитарного повреждения сравнивали в группах больных с СД, различающихся по выраженности альбуминурии/протеинурии [8]:

I группа (n=41) – пациенты с СД 1-го и 2-го типа с АУ < 30 мг/гCr (A1);

II группа (n=13) – пациенты с СД 1-го и 2-го типа с АУ $30–300$ мг/гCr (A2);

III группа (n=20) – пациенты с СД 1-го и 2-го типа с ПУ.

Артериальная гипертензия (АГ) наблюдалась у 52 из 74 (70%) обследованных, преимущественно у больных с СД 2-го типа. Коррекция АГ проводилась с помощью ингибиторов АПФ, блокаторов кальциевых каналов. ХБП 1 стадии выявлена у 41 обследованного пациента, ХБП 2 стадии – у 25, ХБП 3 стадии – у 8 человек.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета прикладных статистических программ «STATISTICA 10,0» («StatSoft», США). При анализе уровней медиаторов в моче, имеющих отличное от нормального распределение, оценивали медиану, разброс величин по отношению к медиане характеризовали показателем интерквартильного размаха [25; 75%], куда входят 50% всех полученных значений. При сравнении двух групп использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Для выявления и оценки связей между исследуемыми показателями применяли непараметрический корреляционный анализ по методу Спирмена. Достоверность различий частот в двух группах оценивали с помощью критерия χ^2 с поправкой Йетса. Нулевую статистическую гипотезу об отсутствии различий и связей отвергали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Показатели нефринурii (НУ) и подоцинурии (ПДУ), превышающие по уровню 75-й перцентиль в контрольной группе (т.е. практически не встречающиеся у здоровых), мы принимали за «положительные» значения (НУ⁺ $> 5,84$ нг/мл/г; ПДУ⁺ $> 1,73$ нг/мл/г). НУ⁺ выявлялась, в среднем, у 69% (52 из 74) больных с СД: у 63% (26 из 41) пациентов с АУ < 30 мг/г (A1), у 77% (10 из 13) – с АУ $30–300$ мг/г (A2) и у 80% (16 из 20) – с ПУ (рис. 1).

ПДУ⁺ выявлялась у 74% (31 из 70) общей группы больных с СД, в том числе, у 78% (31 из 40) пациентов I группы (A1), у 54% (7 из 13) – из II группы (с А2) и у 83% (52 из 70) больных из III группы (с ПУ) (рис.2). Больные с СД1 и СД2 типов с НУ⁺ и ПДУ⁺ в каждой подгруппе распределялись практически равномерно (см. рис. 1, 2).

Средний уровень НУ в подгруппах больных с альбуминурией A1 и A2 не различался между СД 1-го и 2-го типов (7,06 [5,98;7,22] и 7,03 [6,07;7,82] нг/мл/г – СД1 и СД2 с альбуминурией A1 соответственно, $p > 0,05$; 9,56 [7,66;9,56] и 6,91 [6,73;7,06] нг/мл/г – СД1 и СД2 с альбуминури-

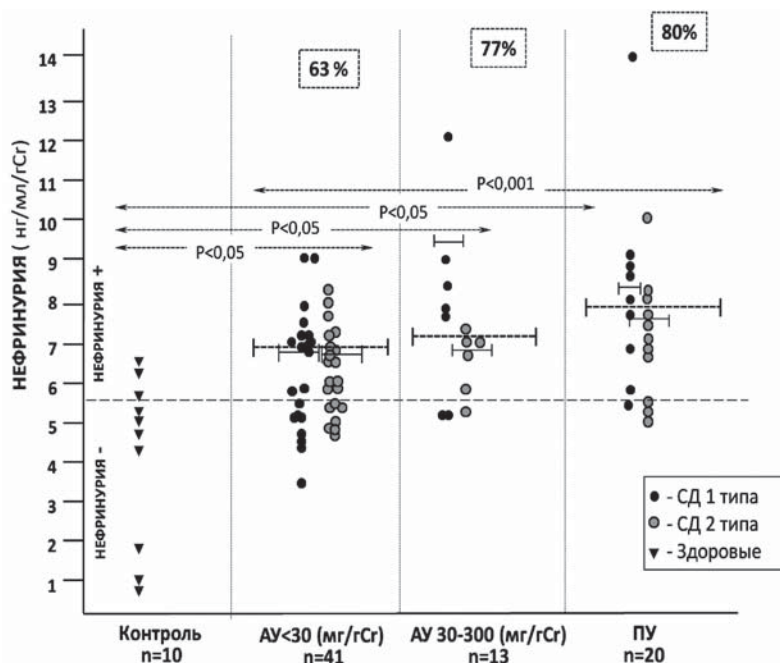


Рис. 1. Нефринурия у больных с сахарным диабетом (n=74).

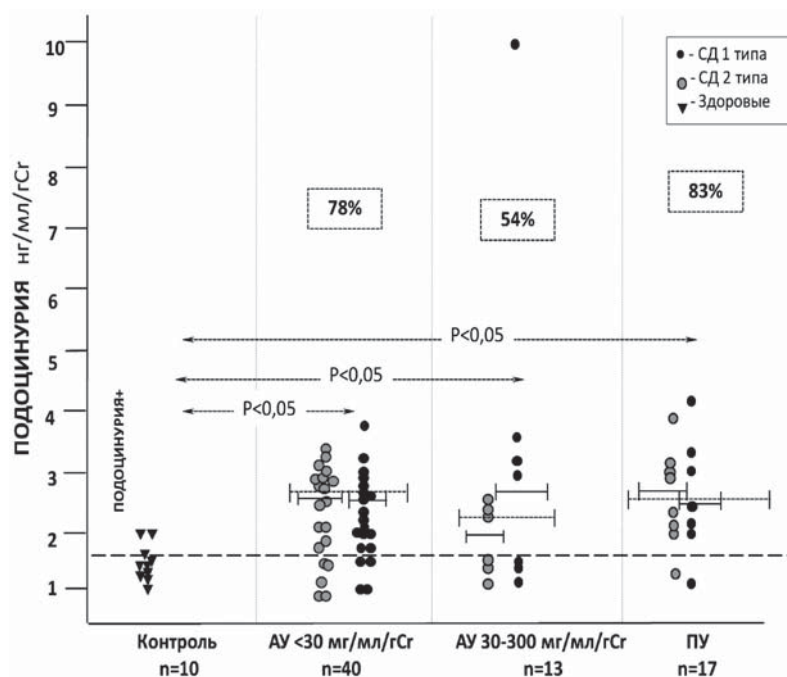


Рис. 2. Пододинария у больных с сахарным диабетом (n=70).

ей А2 соответственно, $p>0,05$), что, по-видимому, отражает общность механизмов повреждения подоцитов при диабете. При клинически явной ДН, протекающей с ПУ, экскреция нефрина с мочой была достоверно выше, чем в подгруппе с альбуминурией А1 (таблица).

У пациентов с СД1 типа с ПУ нефринурия достоверно превышала таковую у больных СД2 типа (8,67 [8,04;9,93] и 7,46 [7,38;7,68] нг/мл/г соответственно, $p<0,05$).

Средний уровень ПДУ в подгруппах больных с альбуминурией А1 и А2 и с ПУ был одинаково высок (таблица) и не различался между СД 1 и 2 типов (2,5[2,1;2,86] и 2,7 [2,4;3,01] нг/мл – СД1 и СД2 с альбуминурией А1 соответственно, $p>0,05$; 2,05[2,03;2,45] и 2,6 [2,0;3,27] нг/мл/г – СД1 и СД2 с альбуминурией А2 соответственно, $p>0,05$; 2,6 [2,12;3,09] и 2,8 [2,2;4,24] нг/мл/г – СД1 и СД2 с ПУ соответственно, $p>0,05$).

У пациентов с СД 1 типа выявлена прямая корреляция НУ с выраженностью АУ ($R=0,47$, $p<0,05$), эта связь была более выраженной у больных с альбуминурией А2 ($R=0,947$, $p<0,05$). Наиболее сильной и достоверной была взаимосвязь НУ с ПУ ($R=0,953$, $p<0,01$).

Показатели НУ и ПДУ у больных с СД 1-го типа прямо коррелировали с уровнем креатинина сыворотки крови ($R=0,489$, $p<0,05$ и $R=0,468$, $p<0,05$ соответственно) и обратно – со СКФ ($R=-0,461$, $p<0,05$ и $R=-0,36$, $p<0,05$ соответственно), что отражает роль подоцитарного повреждения не только в нарушении проницаемости гломерулярного фильтра, но и в развитии гломерулосклероза и формировании дисфункции почек. На это указывает и выявленная нами прямая взаимосвязь между уровнем НУ и длительностью СД, которая была достоверной и имела наибольшую силу у пациентов с СКФ менее 60 мл/мин независимо от типа диабета ($R=0,73$, $p<0,05$).

У пациентов с длительностью СД1 и СД2 менее 5 лет НУ прямо коррелировала с показателем гликозилированного гемоглобина HbA_{1c} ($R=0,84$, $p<0,01$).

На величину показателя НУ при разной длительности диабета оказывала влияние АГ. Это более четко прослеживалось у больных с СД 2-го типа, у которых АГ выявлялась не только в процессе развития ДН, но часто предшествовала развитию патологии почек. У данной категории больных нами выявлена прямая достоверная связь систолического артериального давления с выраженностью экскреции нефрина с мочой ($R=0,33$, $p<0,05$).

Таблица
**Средние показатели нефринурии (НУ⁺)
 и подоцинурии (ПДУ⁺) в подгруппах
 больных с сахарным диабетом,
 Me [интерквартильный размах], n=52**

Подгруппы обследованных	Экскреция с мочой маркеров повреж- дения подоцитов	
	НУ ⁺ (нг/мл/гCr)	ПДУ ⁺ (нг/мл/гCr)
СД с АУ <30 мг/гCr	7,04 [6,07;7,22] n=26	2,5 [2,03;3,01] n=31
II. СД с АУ 30–300 мг/гCr	7,36 [6,73;9,56] n=10	2,03 [1,48;3,04] n=7
III. СД с ПУ	7,76 [7,42;8,49] n=16	2,7 [2,03;3,73] n=14
IV. Здоровые	5,3 [1,0;5,84] n=10	1,56 [1,21;1,73] n=10
p _(I, II, III, IV)	p _{I-III} < 0,001 p _{I-IV} < 0,05 p _{I-II} > 0,05 p _{II-IV} < 0,05 p _{II-III} > 0,05 p _{III-IV} < 0,05	p _{I-III} > 0,05 p _{I-IV} < 0,05 p _{I-II} > 0,05 p _{II-IV} < 0,05 p _{II-III} > 0,05 p _{III-IV} < 0,05

ОБСУЖДЕНИЕ

В последние десятилетия предметом пристального внимания и научных исследований в нефрологии являются подоциты и их участие в патогенезе различных протеинурических форм поражения почек не только наследственных, но и приобретенных, в том числе ДН.

Предпосылками к такому направлению исследований послужили экспериментальные работы, продемонстрировавшие важную роль подоцитов в поддержании нормальной структуры и функции почечного клубочка и ключевое значение этих нарушений в развитии ПУ и прогрессировании гломерулосклероза [11–14]. В ранее опубликованном обзоре мы подробно осветили структурные и функциональные изменения подоцитов, ассоциированные с метаболическими, эндокринными и гемодинамическими расстройствами при СД, ознакомили с результатами современных экспериментальных и клинических исследований по данным вопросам [15]. В частности было показано, что воздействие на подоциты гипергликемии, конечных продуктов гликозилирования (КПГ), компонентов активированной ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), внутриклубочковой гипертензии, оксидативного стресса и других факторов приводит к повреждению комплекса адгезивных белков, закрепляющих подоциты на базальной мембране клубочка (БМК), к перестройке актинового цитоскелета с развитием эффекта сглаживания подоцитарных отростков, усиленному апоптозу подоцитов с последующим их отслоением от БМК и экскрецией с мочой как

целых клеток (подоцитурия), так и отдельных подоцитарных белков (неффина, подоцина и др.) [16–21]. Важно, что ультраструктурные и функциональные нарушения в подоцитах предшествуют повышению альбуминурии и могут обнаруживаться даже при непродолжительном течении СД, что определяет еще один важный аспект изучения маркеров подоцитарной дисфункции – для ранней диагностики и мониторинга течения ДН.

По нашим данным, высокая экскреция маркеров подоцитарного повреждения отмечалась у части пациентов уже при альбуминурии < 30 мг/г, а при развитии МАУ и особенно ПУ частота обнаружения высокой нефрин- и подоцинурии нарастала. Ожидаемо, что наиболее высокие показатели НУ выявлялись у пациентов с ПУ, отражая более выраженные изменения в подоцитах при клинически явной ДН. Полученные нами результаты согласуются с другими исследованиями, свидетельствующими о вовлечении подоцитов в процессы инициации почечного повреждения при СД. В частности, А. Pătări и соавт. [22] провели кросс-секционное исследование у больных с СД 1-го типа и выявили методом иммуноблоттинга НУ у 30% больных СД с нормоальбуминурией (в нашем исследовании соответствует АУ А1), у 17% – с МАУ (в нашем исследовании соответствует АУ А2), у 28% – с ПУ, тогда как в моче здоровых лиц нефрин не определялся. В работе В. Jim [23] НУ выявлялась у 54% больных с нормоальбуминурией и у всех больных СД 2-го типа с ПУ и МАУ. Как и в нашем исследовании, средний уровень экскреции нефрина с мочой у пациентов с МАУ и особенно с ПУ достоверно превышал таковой у пациентов с меньшей величиной АУ.

Повышенные концентрации глюкозы, воздействуя на подоциты, активируют экспрессию в них коллагена IV типа и фибронектина, подавляют механизмы расщепления внеклеточного матрикса (снижают продукцию матриксной металлопротеиназы 2-го типа и увеличивают продукции её тканевого ингибитора), что в целом способствует утолщению БМК [24]. Гипергликемия вызывает реорганизацию актиновых фибрилл в цитоскелете подоцита с нарушением архитектоники его тела и ножек, способствуя таким образом развитию АУ/ПУ [24]. Одним из основных механизмов, посредством которых гипергликемия оказывает повреждающее действие на структуры почки, в том числе подоциты, является неферментативное гликозилирование белков с образованием токсичных продуктов. Наибольшее повреждающее действие оказывают КПГ. Они образуются в организме боль-

ного с СД довольно быстро, в течение нескольких месяцев, после чего даже тщательная компенсация гликемии уже не способна полностью устранить присутствие этих веществ. Именно необратимостью КПП объясняют продолжающееся прогрессирование сосудистых осложнений даже при хорошей компенсации СД. Подоциты являются мишенью для КПП, о чем свидетельствует экспрессия ими соответствующих рецепторов. Так, *in vitro* в культуре подоцитов экспериментальных животных с СД и подоцитов пациентов с СД было продемонстрировано снижение ими экспрессии нефрина под воздействием гликированного альбумина, который проявлял свои эффекты при соединении с рецепторами КПП [25]. Экспрессию рецепторов КПП в подоцитах активирует не только гипергликемия, но и ангиотензин-II (АТ-II) через АТ₂-рецепторы [25]. Эти сигнальные пути могут представлять дополнительный интерес как потенциальный объект воздействия препаратов, блокирующих РААС, с точки зрения уменьшения токсических эффектов КПП.

По нашим данным, у пациентов с СД 1-го и СД 2-го типов с длительностью заболевания не более 5 лет выявлялась сильная высокодостоверная взаимосвязь НУ с уровнем гликозилированного гемоглобина, что также указывает на ключевую роль гипергликемии в формировании подоцитарной дисфункции даже при непродолжительном течении СД и подчеркивает необходимость достижения оптимального контроля гликемии для профилактики развития и нарастания тяжести ДН.

По современным представлениям, повреждающее воздействие на подоциты оказывает системная, а также внутриклубочковая гипертензия, что было продемонстрировано при ДН и гипертоническом нефроангиосклерозе [26–29]. Установлено, что длительное воздействие мощного гидравлического пресса приводит к механическому растяжению подоцитов, нарушению синтеза адгезивных белков, снижению экспрессии ряда структурных подоцитарных белков [30]. Введение ангиотензина в эксперименте у крыс, помимо развития АГ, сопровождалось апоптозом подоцитов и уменьшением экспрессии нефрина [31]. Кроме того, в эксперименте показано, что подоциты сами являются одним из источников синтеза компонентов РААС в почке. Высокие концентрации глюкозы и механическое растяжение индуцируют синтез АТ-II подоцитами через активацию экспрессии ангиотензиногена. Под воздействием повреждающих факторов подоциты экспрессируют АТ₁- и АТ₂-рецепторы, приобретая, таким

образом, способность отвечать на действие циркулирующего АТ-II. Помимо гипергликемии и механического растяжения, продукцию АТ-II в подоцитах активируют трансформирующий фактор роста-β1, реактивные кислородные радикалы, компоненты ПУ [32, 33].

В нашем исследовании достоверная взаимосвязь АГ с выраженностью экскреции нефрина с мочой выявлялась у больных с СД 2-го типа, при СД 1-го типа она не достигла уровня статистической значимости, что, как мы полагаем, связано с большей частотой обнаружения АГ именно в группе больных с СД 2-го типа. Больные с СД 2-го типа были старше, многие из них уже имели АГ к моменту развития у них ДН.

Экспериментальными исследованиями последних лет было убедительно показано, что повреждение подоцитов имеет первостепенное значение не только в нарушении проницаемости фильтрационного барьера и развитии ПУ, но и в формировании гломерулосклероза и нарушении функции почек [13]. При интенсивном или продолжительном воздействии повреждающих факторов происходит значительное смещение подоцитов в мочевое пространство, что при ограниченной пролиферативной способности этих клеток приводит к подоцитопении. На месте потери подоцита БМК оголяется, срачивается с капсулой Шумлянско-Боумена, формируя очаги гломерулосклероза. Кроме того, в процессе повреждения подоциты утрачивают способность экспрессировать специфические подоцитарные белки, меняют эпителиальный фенотип и начинают экспрессировать маркеры мезенхимальных клеток. Подобно фибробластам, трансдифференцированные подоциты приобретают способность продуцировать матриксные белки (фибронектин, коллаген и др.), ускоряя таким образом формирование гломерулосклероза и нарушение функции почек [13, 34, 35].

На важную роль подоцитарной дисфункции в механизмах прогрессирования ДН косвенно указывают и результаты нашего исследования. Так, у пациентов с СД с разной выраженностью АУ/ПУ показатель экскреции с мочой нефрина прямо коррелировал с уровнем креатинина в сыворотке крови и обратно – с СКФ, а у пациентов со стойким снижением СКФ менее 60 мл/мин выявлялась сильная прямая взаимосвязь между уровнем нефринурии и длительностью СД, что отражает причинно-следственную взаимосвязь пролонгированного повреждения подоцитов при длительном течении СД с развитием дисфункции почек.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, у большинства (от 63 до 74%) больных с СД выявляется высокая экскреция с мочой маркеров повреждения подоцитов (нефрина, подоцина), предшествующая развитию клинически значимой альбуминурии и ПУ, что позволяет использовать данные мочевые тесты для ранней доклинической диагностики гломерулярного повреждения при СД.

Тесные корреляции уровня в моче биомаркеров подоцитарной дисфункции (в большей степени нефринирии) с клиническими проявлениями поражения почек (выраженностью альбуминурии/протеинурии, артериальной гипертензии, почечной дисфункции), а также уровнем гликозилированного гемоглобина крови раскрывают перспективы применения изученных мочевых тестов для неинвазивного мониторингирования развивающихся при СД гломерулярных изменений и оценки риска их прогрессирования.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *International Diabetes Federation atlas (7th edition update)*. Brussels, Belgium. International Diabetes Federation; 2015. Available from: <http://www.diabetesatlas.org/>
2. Дедов ИИ, Шестакова МВ, Викулова ОК. Государственный регистр сахарного диабета в Российской Федерации: статус 2014 г. и перспективы развития. *Сахарный диабет* 2015; 18(3): 5-22. DOI: 10.14341/DM201535-22 [Dedov II, Shestakova MV, Vikulova OK. Nacionalnyj registr saharnogo diabeta v Rossijskoj Federacii: status 2014 i perspektivy razvitiya. *Saharnyj Diabet* 2015; 18(3): 5-22]
3. Дедов ИИ, Шестакова МВ, Галстян ГР. Распространенность сахарного диабета 2 типа у взрослого населения России (исследование NATION). *Сахарный диабет* 2016; 19(2): 104-112. DOI: 10.14341/DM2004116-17 [Dedov II, Shestakova MV, Galstjan GR. Rasprostranjonnost saharnogo diabeta 2 tipa u vzroslogo naselenija Rossii (issledovanie NATION). *Saharnyj Diabet* 2016; 19(2): 104-112]
4. Дедов ИИ. Сахарный диабет: развитие технологий в диагностике, лечении и профилактике. *Сахарный диабет* 2010; 13(3): 6-13. DOI: 10.14341/2072-0351-5480 [Dedov II. Saharnyj diabet: razvitie tehnologij v diagnostike, lechenii i profilaktike. *Saharnyj Diabet* 2010; 13(3): 6-13]
5. Шестакова МВ, Шамхалова МШ, Ярек-Мартынова ИЯ и др. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек: достижения, нерешенные проблемы и перспективы лечения. *Сахарный диабет* 2011; 14(1): 81-88. DOI: 10.14341/2072-0351-6254 [Shestakova MV, Shamhalova Msh, Jarek-Martynova IYa i dr. Saharnyj diabet i hronicheskaja bolezni pohek: dostizhenija, nereshennye problemy i perspektivy lechenija. *Saharnyj Diabet* 2011; 14(1): 81-88]
6. Shestakova M, Mukhin N, Dedov I et al. Protein-loading test, urinary albumin excretion and renal morphology in diagnosis of subclinical diabetic nephropathy. *J Int Med* 1992; 231(3): 213-217
7. Dalla Vestra M, Saller A, Bortoloso E et al. Structural involvement in type 1 and type 2 diabetic nephropathy. *Diabetes Metab* 2000; 26(4): 8-14. DOI: 10.2337/diabetes.52.4.1031
8. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Кисина АА и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению диабетической нефропатии. *Нефрология* 2015; 19(1): 67-77. DOI [313.053-036.865+613.693]-08.847 [Smirnov AV, Dobronravov VA, Kisina AA i dr. Klinicheskije rekomendacii po diagnostice i lecheniju diabeticheskoi nefropatii. *Nefrologija* 2015; 19(1): 67-77]
9. National Kidney Foundation. KDOQI Clinical Practice Guideline for Diabetes and CKD: 2012 update. *Am J Kidney Dis* 2012; 60(5):850-886
10. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Intern* 2013; 3: 1-150
11. Pavenstadt H, Kriz W, Kretzler M. Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiol Rev* 2003; 83(1): 253-307. DOI: 10.1152/physrev.00020.2002
12. Barisoni L, Kopp JB. Update in podocyte biology: putting one's best foot forward. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003; 12(3): 251-258. DOI: 10.1097/01.mnh.0000069861.94246.8c
13. Shankland SJ. The podocyte's response to injury: Role in proteinuria and glomerulosclerosis. *Kidney Int* 2006; 69: 2131-2147. DOI: 10.1038/sj.ki.5000410
14. Kriz W, Elger M, Nagata M et al. The role of podocytes in the development of glomerular sclerosis. *Kidney Int* 1994; suppl 45; S64-S72
15. Бобкова ИН, Шестакова МВ, Щукина АА. Диабетическая нефропатия – фокус на повреждение подоцитов. *Нефрология* 2015; 2(19): 33-44 [Bobkova IN, Shestakova MV, Schukina AA. Diabeticheskaja nefropatija – fokus na povrezhdenie podocytov. *Nefrologija* 2015; 2(19): 33-44]
16. Granier C, Makni K, Molina L. Gene and protein markers of diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 7922-799. DOI: 10.1093/ndt/gfm834
17. Ziyadeh FN, Wolf G. Pathogenesis of podocytopathy and proteinuria in diabetic glomerulopathy. *Current Diabetes Reviews* 2008; 4: 39-45. DOI: 10.2174/157339908783502370
18. Wolf G, Chen S, Ziyadeh FN. From the periphery of glomerular capillary wall toward the center of disease. Podocyte injury comes of age in diabetic nephropathy. *Diabetes* 2005; 54(6): 1626-1634. DOI.org/10.2337/diabetes.54.6.1626
19. Stitt-Cavanagh E, MacLeod L, Kennedy CRJ. The podocyte in diabetic kidney disease. *The Scientific World Journal* 2009; 9: 1127-1139. DOI: 10.1100/tsw.2009.133
20. Reddy GR, Kotlyarevska K, Ransom RF. The podocyte and diabetes mellitus: is the podocyte key to the origins of diabetic nephropathy? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008; 17: 32-36. DOI: 10.1097/MNH.0b013e3282f2904d
21. Steffes MW, Schmidt D, McGregory R, Basgen JM. Glomerular cell number in normal subject and in type 1 diabetic patients. *Kidney Int* 2001; 59: 2104-2113. DOI: 10.1046/j.1523-1755.2001.00725.x
22. Pățari A, Forsblom C, Havana et al. Nephropathy in diabetic nephropathy of type 1 diabetes. *Diabetes* 2003; 52: 2969-2974. DOI: 10.2337/diabetes.52.12.2969
23. Jim B, Ghanta M, Qipo A et al. Dysregulated nephrin in diabetic nephropathy of type 2 diabetes: A cross sectional study. *PLoS ONE* 2012; 7(5): e36041. DOI: 10.1371/journal.pone.0036041
24. Gruden G, Perin PC, Camussi G. Insight on the pathogenesis of diabetic nephropathy from the study of podocyte and mesangial cell biology. *Current Diabetes Review* 2005; 1(1): 27-40
25. Stitt-Cavanagh E, MacLeod L, Kennedy CRJ. The podocyte in diabetic kidney disease. *Scientific World Journal* 2009; 9: 1127-1139. DOI: 10.1100/tsw.2009.133
26. Cooper ME. Interaction of metabolic and haemodynamic factors in mediating experimental diabetic nephropathy. *Diabetologia* 2001; 44: 1957-1972. DOI: 10.1007/s001250100000
27. Wang G, Lai FM, Kwan BC et al. Podocyte loss in human hypertensive nephrosclerosis. *Am J Hypertens* 2009; 22: 300-306. DOI: 10.1038/ajh.2008.360
28. Forbes JM, Bonnet F, Russo LM et al. Modulation of nephrin in the diabetic kidney: association with systemic hypertension and increasing albuminuria. *J of Hypertension* 2002; 20(5): 985-992
29. Amazonas RB, de Almedia Sanita R, Kawashi H et al. Prevention of hypertension with or without renin-angiotensin system inhibition precludes nephrin loss in the early stage of experimental diabetes mellitus. *Nephron Physiol* 2007; 107: 57-64
30. Lewko B, Stepinski J. Hyperglycemia and mechanical stress: Targeting the renal podocyte. *J Cell Physiol* 2009; 221(2):

288-295. DOI: 10.1002/jcp.21856

31. Jia J, Ding G, Zhu J et al. Angiotensin II infusion induced nephrin expression changes and podocyte apoptosis. *Am J Nephrol* 2008; 28 (3): 500-507. DOI: 10.1159/000113538

32. Abbate M, Zoja C, Morigi M et al. Transforming growth factor-beta1 is up-regulated by podocytes in response to excess intraglomerular passage of proteins: a central pathway in progressive glomerulosclerosis. *Am J Pathol* 2002; 161(6): 2179-2193. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64495-1

33. Durvasula RV, Petermann AT, Hiromura K et al. Activation of a local tissue angiotensin system in podocytes by mechanical strain. *Kidney Int* 2004; 65(1): 30-39. DOI: 10.1111/j.1523-1755.2004.00362.x

34. Li Y, Kang YS, Dai C et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is a potential pathway leading to podocyte dysfunction and proteinuria. *Am J Pathol* 2008; 172(2): 299-308. DOI: 10.2353/ajpath.2008.070057

35. Liu Y. New Insights into epithelial-mesenchymal transition in kidney fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 212-222. DOI: 10.1681/ASN.2008121226

Сведения об авторах:

Проф. Ирина Николаевна Бобкова, д.м.н.

119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова; отдел нефрологии Научно-исследовательского центра, кафедра нефрологии и гемодиализа Института профессионального образования. Тел.: 8(499)-248-41-66, E-mail: irbo.mma@mail.ru

Irina N. Bobkova MD, PhD, DMedSci, professor

Affiliations: 119991 Russia, Moscow, Trubetskaya str., 8, build. 2. I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Nephrology department of Research Centre, Department of nephrol-

ogy and hemodialysis of Professional education Institute. Phone: 8(499)-248-41-66, E-mail: irbo.mma@mail.ru

Анна Александровна Щукина

119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова; кафедра нефрологии и гемодиализа Института профессионального образования, аспирант. Тел.: 8(499)-248-41-66, E-mail: pikeann@rambler.ru

Doctor Anna A. Shchukina

Affiliations: 119991 Russia, Moscow, Trubetskaya str., 8, build. 2. I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Department of nephrology and hemodialysis of Professional education Institute. Phone 8(499)-248-41-66, E-mail: pikeann@rambler.ru

Академик Российской академии наук, проф. Шестакова Марина Владимировна, д.м.н.

117036, Россия, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11. Эндокринологический научный центр, директор Института диабета. Тел.: 8 (495) 500-00-90, E-mail: nephro@endocrincentr.ru Marina V. Shestakova, MD, PhD, professor, academician of Russian Academy of Science

Affiliations: 117036 Russia, Moscow, Dmitriya Uljanova str., 11 Endocrinology Research Centre, Institute of diabetes, director. Phone: 8 (495) 500-00-90, E-mail: nephro@endocrincentr.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию: 20.09.2016 г.

Принята в печать: 01.02.2017 г.