

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Щукина Анна Александровна

**Клиническое значение определения мочевых биомаркеров подоцитарной
дисфункции у больных сахарным диабетом**

3.1.32. Нефрология

3.1.19. Эндокринология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Бобкова Ирина Николаевна

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН,

Шестакова Марина Владимировна

Москва - 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Сахарный диабет и хроническая болезнь почек	13
1.2 Морфология и стадии диабетической нефропатии	15
1.3 Поражение подоцитов при сахарном диабете	19
1.3.1 Строение подоцита	19
1.3.2 Механизмы повреждения подоцитов	22
1.3.3 Медиаторы подоцитарного повреждения	29
1.4 Повреждение структурных белков подоцита при диабетической нефропатии	33
1.5 Подоциты как источник синтеза компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы	36
1.6 Медиаторы фиброангиогенеза	39
1.7 Подоциты как мишень для лечения диабетической нефропатии	43
1.8 Заключение по обзору литературы	46
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	49
2.1 Клиническая характеристика обследованных больных	49
2.2 Обследование больных	53
2.3 Группы больных	54
2.4 Специальные методы исследования	56
2.5 Методы статистической обработки	57
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	59
3.1 Мочевые биомаркеры подоцитарного повреждения и клеточного стресса	59
3.1.1 Исследование нефрина в моче пациентов с сахарным диабетом	59
3.1.2 Исследование подоцина в моче пациентов с сахарным диабетом	62
3.1.3 Исследование миндина в моче пациентов с сахарным диабетом	65

3.1.4 Маркер клеточного повреждения БТШ-27 в моче пациентов сахарным диабетом	70
3.2 Маркеры фиброангиогенеза в моче пациентов с сахарным диабетом	73
3.2.1 Исследование коллагена IV типа в моче пациентов с сахарным диабетом...	73
3.2.2 Исследование TGF- β 1 в моче пациентов с сахарным диабетом	76
3.2.3 Исследование VEGF в моче больных сахарным диабетом.....	79
3.3 Взаимосвязь между исследуемыми маркерами подоцитарного повреждения, фиброангиогенеза и клеточного повреждения у больных сахарным диабетом	84
3.4 Оценка информативности исследуемых биомаркеров для диагностики поражения почек при сахарном диабете.....	85
3.4.1 Значение мочевых биомаркеров для ранней диагностики поражения почек и оценки риска его прогрессирования	87
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	92
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	97
ВЫВОДЫ	98
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	100
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	101
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	104

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Сахарный диабет (СД) – системное метаболическое заболевание, которое приняло пандемический характер распространения и превратилось в глобальную медико-социальную проблему XXI века. Тяжелыми и необратимыми последствиями СД считаются сосудистые осложнения. Общемировую проблему представляет поражение почек при сахарном диабете или диабетическая нефропатия (ДН), приводящая к формированию гломерулосклероза и, в конечном итоге, хронической почечной недостаточности (ХПН), что в свою очередь является нередкой причиной инвалидизации, высокой смертности больных во всем мире [1]. В этой связи анализ механизмов, исследование патогенетических факторов развития и прогрессирования поражения почек при СД, а также поиск и отбор наиболее значимых и информативных биомаркеров, которые отражают изменения в почке, не выявляемые клинически, и создание методов неинвазивной диагностики и оценки фиброза почек крайне актуальны по сей день.

В свете последних данных важнейшим препятствием в структуре гломерулярного фильтра для попадания белков плазмы в мочу представляют эпителиальные клетки капсулы Боумена-Шумлянского (КБ) - подоциты и межподоцитарная щелевая диафрагма [2]. В экспериментальных моделях ДН показано, что воздействие на подоциты различных факторов (гипергликемия, внутриклубочковая гипертензия, оксидативный стресс) приводит к повреждению комплекса адгезивных белков, закрепляющих подоциты на базальной мембране клубочка (БМК), перестройке актинового цитоскелета, усиленному апоптозу подоцитов с последующим их отслоением от БМК и экскрецией с мочой как целых клеток (подоцитурия), так и отдельных подоцитарных белков [3; 4]. Экспериментальные данные зарубежных исследователей демонстрируют, что появление структурных белков подоцитов в моче у животных с индуцированным

СД определяется раньше, чем появится в моче повышенный уровень альбумина (альбумин в моче от 30 до 300 мг/г креатинина (Cr) мочи) [5]. При продолжительном воздействии на почечный клубочек перечисленных ранее повреждающих факторов подоциты отсоединяются от БМК и попадают в мочевое пространство. Так как пролиферативная способность подоцитов резко ограничена, данные повреждения вызывают подоцитопению (уменьшение подоцитов), что в свою очередь ведет к повышенной потере с мочой альбумина, а в конечном итоге к гломерулосклерозу и потере функции почек [6; 7]. Методики для определения количества подоцитарных белков в моче появились не так давно, но занимают важное место в прогнозировании ухудшения и потери фильтрационной способности почек [2]. В настоящее время клинические работы по определению медиаторов и биомаркеров подоцитарной дисфункции и фиброангиогенеза на разных стадиях ДН немногочисленны. Наличие неинвазивного метода раннего, доклинического определения степени поражения почек у больных СД позволит разработать меры профилактики, расширить показания к нефропротективному лечению, что повлечет за собой отдаление терминальной почечной недостаточности (ТПН) у таких больных и значительно снизит потребность в заместительной почечной терапии.

Степень ее разработанности

Неинвазивные методы оценки раннего поражения почек при СД, пригодные для клинической практики, пока еще не разработаны. С этой целью по-прежнему проводится определение альбуминурии (АУ), хотя предшествующие морфологические и клинические исследования уже продемонстрировали, что обнаружение повышенного альбумина в моче больных СД «пропускает» структурные и функциональные нарушения, развивающиеся задолго до повышения экскреции альбумина с мочой, также была показана низкая информативность микроальбуминурии и как предиктора прогрессирования

хронической болезни почек (ХБП) [8]. Полученные экспериментальные данные о вовлечении подоцитов в процессы инициации почечного повреждения при СД сфокусировали научный интерес к этим клеткам, но результаты эксперимента не могут быть полностью перенесены в клинические условия. За последнее десятилетие активизировались исследования, в том числе отечественные [9; 10], по оценке у больных СД разного спектра маркеров повреждения почек, включая подоцитарные, однако выполнены они на разном методическом уровне и с разными методологическими подходами, результаты их не всегда однозначны, что диктует необходимость дальнейшей разработки данного научного направления и определяет актуальность выполнения настоящей диссертационной работы.

Цель исследования

Установить значение экскретируемых с мочой биомаркёров подоцитарной дисфункции и фиброангиогенеза для ранней диагностики и оценки риска прогрессирования поражения почек у больных сахарным диабетом [11].

Задачи исследования

У больных СД 1 и 2 типа

1. Исследовать уровень экскреции с мочой структурных белков подоцитов (нефрина, подоцина, миндина) и маркёра «внутриклеточного стресса» (белка теплового шока 27) в зависимости от степени компенсации углеводного обмена и клинических проявлений поражения почек.

2. Определить уровень в моче маркёров фиброангиогенеза сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) и коллагена IV типа в сопоставлении с выраженностью нефринурии/подоцинурии [12].

3. Оценить специфичность и чувствительность изученных мочевых тестов в выявлении поражения почек и рассчитать пороговые диагностические значения для наиболее информативных из них.

4. Установить частоту выявления диагностически значимых уровней мочевых биомаркёров у пациентов без традиционных признаков ХБП, оценить их значение для ранней диагностики поражения почек.

5. Уточнить информативность изученных мочевых биомаркеров для оценки риска прогрессирования поражения почек.

Научная новизна

В клинических условиях у больных СД на разных этапах поражения почек, отличающихся выраженностью нарушения проницаемости гломерулярного фильтра (уровень альбуминурии/протеинурии) и почечной дисфункции (скорость клубочковой фильтрации), проведена оценка подоцитарного повреждения на основании определения уровня в моче структурно-функциональных белков подоцитов, маркёров клеточного стресса и фиброангиогенеза в сопоставлении со степенью компенсации гликемии, метаболическими и гемодинамическими нарушениями. Ранее подобные исследования проводились преимущественно в эксперименте.

Оценена информативность мочевых уровней структурных белков подоцитов для диагностики поражения почек у больных СД без традиционных признаков ХБП.

В проспективном исследовании оценено прогностическое значение мочевых биомаркёров подоцитарной дисфункции и фиброгенеза, установлены их уровни, отражающие риск прогрессирования ХБП.

Теоретическая и практическая значимость работы

На основании полученных результатов разработан метод ранней (доклинической) диагностики поражения почек при СД и его неинвазивного мониторингования с использованием доступного материала – мочи, путем определения в ней спектра биомаркеров, отражающих разные патогенетические звенья развития ДН. Определение уровня в моче нефрина и коллагена IV типа позволяет выделять среди больных СД пациентов с повышенным риском прогрессирования нефропатии.

Методология и методы исследования

Дизайн исследования: 1 часть - одномоментное исследование мочевых биомаркеров у 74 больных СД 1 и 2 типа в зависимости от степени поражения почек, оценка их клинической и диагностической значимости для развития и прогрессирования ХБП; 2 часть – проспективное исследование, оценка прогностического значения изученных мочевых тестов у 20 случайно отобранных пациентов, участвовавших в нашем исследовании, в течение ближайших 3-х лет в зависимости от исходно выявляемого уровня биомаркеров в моче.

Личный вклад

Автором самостоятельно проведен поиск и отбор научной литературы по теме диссертации. Отбор пациентов для исследования, обследование, наблюдение за ними в течение 3 лет выполнялись лично Щукиной А.А. Автор овладел методикой иммуноферментного анализа ИФА (ELISA) с целью определения нефрина и подоцина в моче. Ведение компьютерной базы данных обследованных пациентов с СД и группы контроля, проведение статистического анализа

полученных результатов, обсуждение результатов исследования в научных публикациях и их внедрение в практику выполнены непосредственно автором.

Внедрение результатов работы в практику

Основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации внедрены в лечебный процесс в отделении нефрологии Университетской клинической больницы №3 клиники ревматологии, нефрологии и профпатологии им. Е.М. Тареева, и внедрены в учебный процесс на циклах повышения квалификации, занятиях со студентами кафедры внутренних, профессиональных болезней и ревматологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского при изучении дисциплины «Нефрология».

Положения, выносимые на защиту

1. У больных СД 1 и 2 типа повышена экскреция с мочой структурно-функциональных подоцитарных белков, факторов внутриклеточного стресса и фиброангиогенеза, уровень которых прямо коррелирует с длительностью СД, выраженностью гипергликемии, артериальной гипертензии, а также с проявлениями ХБП (уровнем альбуминурии, протеинурии, скоростью клубочковой фильтрации) [11].

2. Из спектра изученных маркеров показатели нефрина и коллагена в моче обладают лучшей специфичностью и чувствительностью для оценки поражения почек при СД. Установлены пороговые диагностические значения нефрина $>7,18$ нг/ед Cr мочи и коллагена $>12,88$ нг/ед Cr мочи, достоверно указывающие на поражение почек.

3. Диагностические концентрации нефрина и коллагена в моче выявляются в среднем у 20% больных СД еще в отсутствии классических проявлений ХБП, даже

при небольшой (менее 5 лет) длительности болезни и ассоциируются с неудовлетворительным контролем гликемии и артериальной гипертензии (АГ), ожирением, что обосновывает целесообразность определения данного спектра биомаркеров для ранней, доклинической диагностики поражения почек у больных СД, особенно имеющих несколько факторов риска ХБП.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность выполненных исследований подтверждается точностью регистрации первичной документации, в которой полно отражен объем анамнестических, клинических, лабораторных исследований, достаточным количеством обследованных, а также применением специальных методов исследования (определение методом иммуноферментного анализа в моче уровня маркеров подоцитарного повреждения - нефрина, подоцина, миндина, белка теплового шока-27 (БТШ-27), TGF β , коллагена IV типа) [5]. Первичная документация содержит блок информации о проведении обработки цифрового материала с помощью пакета статистических программ «STATISTICA Basic», v10,0. Для оценки предсказательной способности мочевых концентрации исследуемых наборов применялась логистическая регрессия и построение ROC-кривой, программа MedCalc, Stat.Soft., Бельгия.

Апробация диссертационной работы состоялась 25 ноября 2022 года на очередном научно - методическом заседании кафедры внутренних, профессиональных болезней и ревматологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на 51 международном конгрессе Европейской ассоциации нефрологов и Европейской ассоциации диализа и трансплантации (ERA-EDTA), Амстердам, Нидерланды (31 мая - 3 июня 2014 год), на 53

международном конгрессе ERA-EDTA, Вена (21 -24 мая 2016 год), объединенном съезде научного общества нефрологов России IX съезд (НОНР), Москва (31 октября-1 ноября 2019 год).

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации автором опубликовано 8 печатных работ, из них 3 оригинальные научные статьи по результатам исследования в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, в том числе 1 статья входит в издания, индексируемые в международных базах Scopus, Web of Science; 3 иные публикации и 2 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения и результаты диссертационной работы соответствует паспорту научной специальности 3.1.32. Нефрология, в частности пунктам 3,4,8 и паспорту научной специальности 3.1.19. Эндокринология, в частности пунктам 5,7.

Структура и объем и диссертации

Диссертация содержит 122 печатных страниц на русском языке, структура работы: введение, четыре главы, в которых последовательно изложены обзор литературы, методология, результаты исследования и обсуждение полученных результатов, заключение, выводы и практические рекомендации. Для наглядности

представлен иллюстративный материал - 40 рисунков, 16 таблиц. Источниками являются 26 отечественных и 127 иностранных, всего 153 научных труда, указанных в списке литературы.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Сахарный диабет и хроническая болезнь почек

Сахарный диабет (СД) является заболеванием цивилизации и сопровождает человечество на протяжении всей истории его развития. Примечательно, что долгие годы заболевание связывали с нарушением работы почек. История изучения СД уходит к 1500 годам до нашей эры, первые письменные упоминания о СД были обнаружены в древнем Египте в Папирусе Эберса, в котором описывалось полиурическое состояние, очень напоминающее диабет [8]. Во II веке нашей эры древнегреческий врач Аретеус Каппадокийский впервые описал клиническую картину СД, отмечая, что у таких пациентов «...жидкость не задерживается в организме, но весь организм сжижается и выходит наружу с мочой..», он назвал заболевание «диабет» (от греческого «диабайно», означающее «проходить через или насквозь»). В 1776 году в Европе английский врач Метью Добсон выявил, что сладкий вкус мочи у больных диабетом, а также крови, обусловлен наличием в них сахара и предложил к названию болезни добавить «сахарный» (от латинского «mellitus, означающий «сладкий, медовый») [13]. XX век стал по-настоящему прорывным в истории диабетологии, периодом бурного развития знаний о патогенезе и этиологии СД, стремительного совершенствования инсулинов и средств их введения, создания новых сахароснижающих препаратов [14; 15]. Однако, несмотря на имеющиеся успехи, о решении проблемы СД пока не приходится говорить. Парадоксально, но сегодня, спустя уже более века с момента разработки первых методов лечения СД, это заболевание не только остается одной из крупнейших мировых проблем, но и приобретает все большее распространение, принимая характер пандемии [1; 8]. Общая численность пациентов с СД в РФ, состоящих на диспансерном учете, на 01.01.2021 г., по данным регистра, составила 4 799 552 (3,23% населения РФ), из них: СД1 — 5,5% (265,4 тыс.), СД2 — 92,5% (4,43 млн), другие типы СД — 2,0% (99,3 тыс.) [16]. С развитием экономики,

изменением рациона питания и снижением физической активности заболеваемость диабетом растет. Серьезные последствия СД неразрывно связаны с микрососудистыми осложнениями болезни, одним из которых является диабетическая нефропатия (ДН).

«Диабетическая нефропатия (синоним «диабетический гломерулосклероз») это ряд специфических типичных морфологических изменений почечной ткани, развивающихся при СД 1 и 2 типа, заключающихся в формировании узелкового или диффузного гломерулосклероза, приводящего к развитию хронической почечной недостаточности» [17; 18]. Распространенность ДН в РФ по данным на 2021 год составила 25,9 % у больных СД 1 типа, и 18,4 % у больных СД 2 типа [16]. Если брать во внимание высокую распространенность СД, непрекращающийся подъем заболеваемости и увеличение продолжительности жизни этих больных, то можно предположить, что большая часть диализных мест будет занята больными СД.

В клинической медицине в 2002 г. произошел переход от определения ХПН к наднозологическому понятию - «хроническая болезнь почек» (ХБП). «Под термином ХБП – следует понимать наличие любых маркеров, связанных с повреждением почек и персистирующих в течение более трех месяцев вне зависимости от нозологического диагноза, при этом под маркерами повреждения почек следует понимать любые изменения, выявляющиеся при клинико-лабораторном обследовании, которые отражают наличие патологического процесса в почечной ткани» [18]. Одним из маркеров ХБП является «скорость клубочковой (гломерулярной) фильтрации (СКФ) – это количество миллилитров плазмы крови, профильтровавшейся во всех клубочках почек за одну минуту. Величина СКФ выражается в мл/мин, определяется величинами почечного плазмотока, фильтрационного давления, фильтрационной поверхности и зависит от массы 10 действующих нефронов. Используется, как интегральный показатель функционального состояния почек и стандартизуется на площадь поверхности

тела» [18]. Авторами также отмечается, что для определения ХБП необходимо 2 раза измерять СКФ и АУ или два показателя в течение не менее 3 месяцев.

В этой связи в последние годы было пересмотрена концепция поражения почек при диабете, а именно трансформировались взгляды на АУ, как на «классический маркер диабетической нефропатии», и стали больше внимание уделять уровню СКФ для диагностики ХБП как надпочечного состояния. Большое количество больных со сниженной СКФ при оптимальной альбуминурии, не учитывалось в формулировании диагноза диабетическая нефропатия, а переход к ХБП повысил распространенность этого осложнения. Анализ зависимости распространенности ХБП от длительности диагноза СД показал, что ХБП развивается у 5,1% больных СД 1 типа и у 3,5% больных СД 2 типа даже при небольшой длительности заболевания – менее 5 лет, тогда как при длительности СД более 15 лет ХБП диагностируют у 48,0% больных СД 1 типа и у 20,3% больных СД 2 типа [19; 20].

1.2 Морфология и стадии диабетической нефропатии

П. Киммельстилл и К. Уилсон, патологоанатомы из Америки, в 1936 году описали избыточное накопление гиалина между капиллярными петлями клубочка почек (интеркапиллярный гломерулосклероз) у больных страдавших диабетом, имевших нефротический синдром и почечную недостаточность [21]. В 1948 году данные морфологические изменения стали называть нодулярным (узелковым) гломерулосклерозом, а с 1951 года закрепилось название «узелковый гломерулосклероз Киммелстилла-Вильсона». Ниже приведено описание главной структурно-функциональной единицы почек нефрона. Нефрон состоит из сосудистого клубочка, капсулы клубочка (капсула Боумена-Шумлянскогo) и системы канальцев (проксимальный, дистальный каналец и собирательные

трубочки). Клубочек или гломерула - представлен сетью капиллярных петель, где происходит первый этап мочеобразования. Три основные составляющие гломерулярного барьера – это эндотелиальные клетки капилляров, (БМК) и подоциты. Капсула клубочка окружает петли капилляров и формирует резервуар. Просвет между петлями капилляров клубочка представлен соединительной тканью или мезангием, схематично строение клубочка представлено на Рисунке 1.

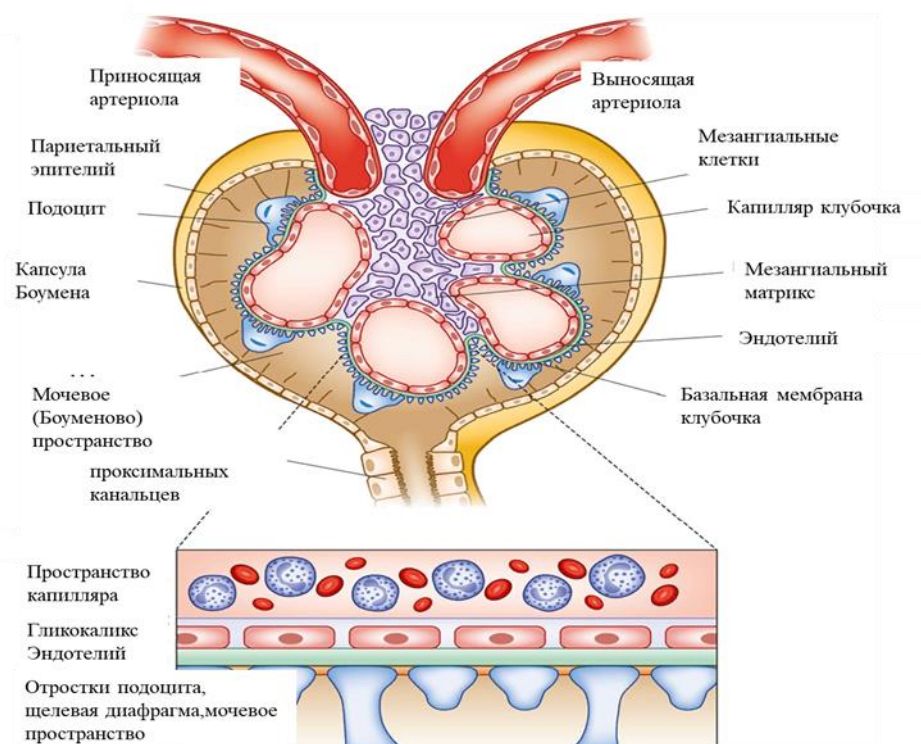


Рисунок 1- Схема строения клубочка

В соответствии с классификацией стадий ДН, которая была предложена в 1983 г. датским исследователем С. Е. Mogensen, выделяли пять стадий ДН [22]. Из них первые две стадии еще не проявляются клинически, но уже имели морфологические изменения в клубочке, III IV и V стадии уже могут быть диагностированы на основании клинических проявлений и характеризуются типичными проявлениями при биопсии почек Таблица 1. Ранними морфологическими изменениями при диабетической гломерулопатии считаются

утолщение БМК, далее происходит увеличение отложения внеклеточного и мезангиального матрикса, расширение мезангиальной области и гипертрофия мезангия, к морфологическим изменениям также относят тубулоинтерстициальный фиброз и гиалиноз артериол[23].

Таблица 1 - Стадии развития диабетической нефропатии, предложенные С.Е. Mogensen (1983)

Стадии	Основные характеристики	Время от начала заболевания
I. Стадия гиперфункции	гиперфльтрация, гиперперфузия, альбуминурия (< 30 мг/сут)	дебют сахарного диабета
II. Стадия начальных структурных изменений почек	утолщение БМК, экспансия мезангия, гиперфльтрация, нормоальбуминурия (<30 мг/сут)	>2 лет < 5 лет
III. Стадия начинающейся ДН	альбуминурия (30-300мг/сут), нормальная или умеренно повышенная СКФ	>5 лет
IV. Стадия выраженной ДН	протеинурия, артериальная гипертензия, снижение СКФ, склероз 50-75% клубочков	>10-15 лет
V. Стадия уремии – СКФ < 10 мл/мин	тотальный гломерулосклероз	>15-20 лет

При таком подходе основная роль в определении стадии поражения почек была отведена изменениям мочевого экскреции альбумина от оптимальной АУ, то есть содержанию альбумина в моче менее 30 мг/ед Cr мочи или ранее называемой

нормальбуминурией, к повышенной АУ (30-300 мг/ед Cr мочи), ранее микроальбуминурии и явной протеинурии (АУ свыше 300 мг/ед Cr мочи) ранее макроальбуминурии.

В 2010 году W. Cohen Tervaert, Antien L. Mooyaar и соавторы предложили патанатомическую классификацию диабетической нефропатии [24]. На основании данной классификации выделяют 4 класса повреждений в клубочках, степень поражения тубулоинтерстиция и сосудов оценивается отдельно Рисунок 2.

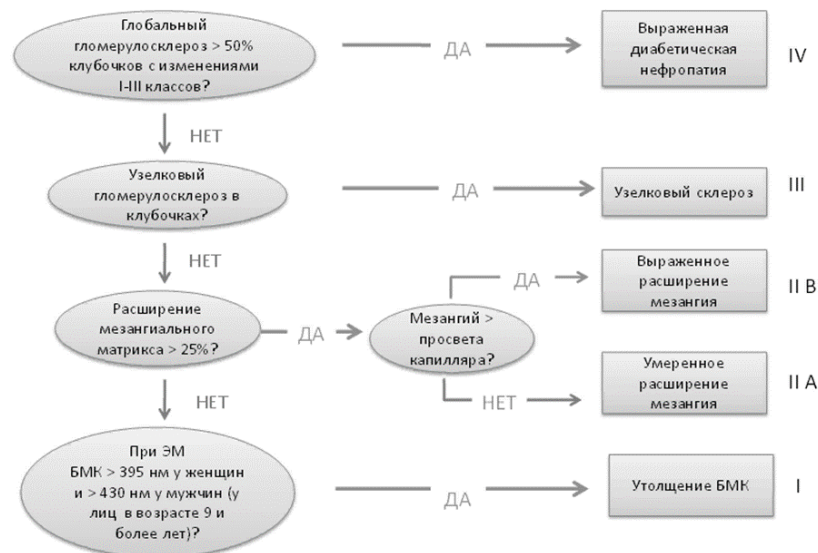


Рисунок 2 – Патанатомическая классификация диабетической нефропатии W. Cohen Tervaert, Antien L. Mooyaar и соавторы 2010 год

Морфологические изменения в биоптатах почки, соответствующие диагнозу диабетической нефропатии, классифицируются следующим образом: класс I – утолщение БМК (изолированное утолщение БМК и незначительные неспецифические изменения при световой микроскопии, которые не соответствуют изменениям II-IV классов), класс II – расширение мезангия умеренное (IIa) или выраженное (IIb): в клубочках наблюдается умеренное или выраженное расширение мезангия при отсутствии узелкового склероза или глобального гломерулосклероза в более чем 50% клубочков, класс III – узелковый склероз, наличие как минимум одного клубочка с узловатым утолщением

мезангиального матрикса (синдром Киммельстилл-Вильсона) без изменений, характерных для класса IV, класс IV – выраженный диабетический гломерулосклероз: глобальный склероз более 50% клубочков с наличием других клинических и патологических признаков ассоциации гломерулосклероза с диабетом.

Многие годы исследователи интенсивно изучали молекулярные механизмы гипертрофии мезангиальных клеток, вызванной гипергликемией, т.н. («мезангиоцентрическая» концепция развития ДН). Однако гиперэкспрессия внеклеточного матрикса до конца не объясняла возникновение диабетической альбуминурии. В эксперименте было установлено, что лечение мышей с диабетом нейтрализующими панселективными анти-TGF-антителами предотвращало расширение мезангиального матрикса, но не имело значительного влияния на альбуминурию. В течение последних лет стремительно появились экспериментальные и клинические работы [3], продемонстрировавшие тесную взаимосвязь роста альбуминурии с ультраструктурными и функциональными нарушениями в подоцитах [25–27].

1.3 Поражение подоцитов при сахарном диабете

1.3.1 Строение подоцита

Подоциты, ключевая часть барьера клубочковой фильтрации, они препятствуют попаданию высокомолекулярных белков в ультрафильтрат клубочков. Эти клетки имеют уникальную структуру, которая сохранилась на протяжении сотен миллионов лет [28]. Подоциты имеют объемное клеточное тело, которое находится в центре клетки и лежит в мочевом пространстве, тело подоцита как бы «подвешено» в ультрафильтрате и прикрепляется к БМК только своими отростками. Тело клетки содержит ядро, обильный эндоплазматический

ретикулум, хорошо развитую систему Гольджи, лизосомы и митохондрии. Плотные расположенные органеллы в теле клетки предполагают высокий уровень анаболической и катаболической активности. Микротрубочки и промежуточные филаменты, такие как *vimentin* и *desmin*, являются преобладающими компонентами цитоскелета в теле клетки, что объясняет уникальную форму подоцитов. Первичные отростки подоцитов делятся на более мелкие с образованием вторичных и третичных отростков, которые в конечном итоге заканчиваются расширениями мембраны, называемыми отростками стопы, которые переплетаются с соседними подоцитами [29; 30]. Недавно в подоцитах идентифицировали четвертый структурный компартмент — гребневидный выступ, отходящий непосредственно от базальной поверхности тела клетки и первичных отростков [31]. Первичные отростки содержат микротрубочки, тогда как отростки стоп содержат актиновые филаменты [32]. Отростки стопы можно разделить на три домена: домен апикальной мембраны, домен щелевой диафрагмы и домен базальной мембраны, который контактирует с БМК. Все три домена тесно связаны с актиновым цитоскелетом ножковых отростков. Ножковые отростки соседних подоцитов соединены между собой адгезивными мультибелковыми комплексами, которые представляют собой сигнальные пути. Межклеточное соединение, которое образует структуру, подобную застежке-молнии, которая соединяет соседние подоциты называется щелевая диафрагма (ЩД), она представляет собой селективный по размеру барьер между двумя ножками подоцитов, который предотвращает попадание крупных макромолекул в ультрафильтрат [30]. ЩД содержит белки, такие как Р-кадгерин, *zonula occludens-1* (ZO-1), а также белки, уникальные только для подоцитов, такие как нефрин, нефриноподобный 1 белок (*nephrin1*) и подоцин, Рисунок 3 [33; 34].

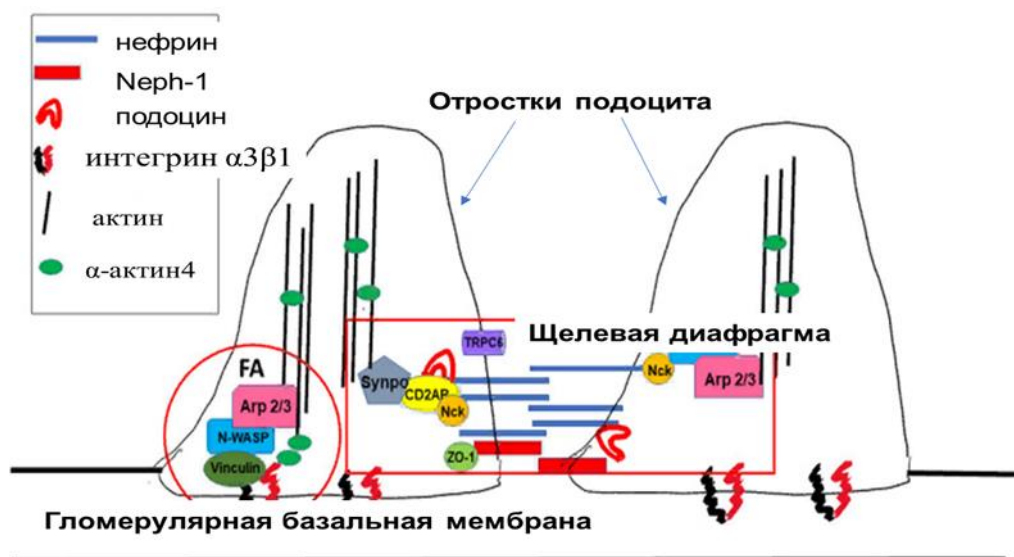


Рисунок 3 – Схематичное строение щелевой диафрагмы

Базальные домены ножек подоцитов предназначены для их прикрепления к БМК, они переплетаются между собой, чтобы эффективно покрывать капиллярные петли. Сохранение структурных характеристик этих доменов имеет исключительно важное значение для функциональной активности подоцитов [35]. Актиновый цитоскелет имеет решающее значение для структуры и функции подоцитов. Мутации в генах, кодирующих белки базальных доменов отростков стопы подоцита, ответственны за формирование нефротического синдрома [29]. Подоциты прикреплены к БМК многими молекулами, один из них интегрин $\alpha3\beta1$, а в БМК расположены интегрин $\alpha3\beta1$ рецепторы, они и обеспечивают связь подоцита с БМК. Сложная архитектура подоцитов нужна для поддержания узкоспециализированных функций подоцитов, таких как поддержание отрицательного заряда для противостоянию попаданию белка в мочу, поддержание формы капиллярной петли; противодействие внутриклубочковому давлению; синтез и поддержание БМК, продукция и секреция фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [2]. Сложное структурное устройство подоцита обеспечивает широкий набор его функций и приспособительных реакций в физиологических условиях, но в то же время делает эту клетку очень чувствительной к повреждению.

1.3.2 Механизмы повреждения подоцитов

После воздействия различных патогенных факторов (метаболических, токсических, гемодинамических) подоциты подвергаются структурно-функциональным изменениям (так называемая «подоцитопатия») [8; 27; 38]. Признаками подоцитопатии являются сглаживание ножек подоцитов с нарушением проницаемости щелевидной диафрагмы, гипертрофия, апоптоз, отслоение подоцитов от БМК [7; 39]. При СД основными факторами повреждения выступают длительная гипергликемия, артериальное давление и дислипидемия. Они способствуют активизации каскадов сигнальных путей, индуцируют апоптотические процессы, усугубляют окислительный стресс, гипоксию, нарушают процессы аутофагии подоцитов. Гипотетический механизм повреждения подоцита при СД представлен на Рисунке 4.

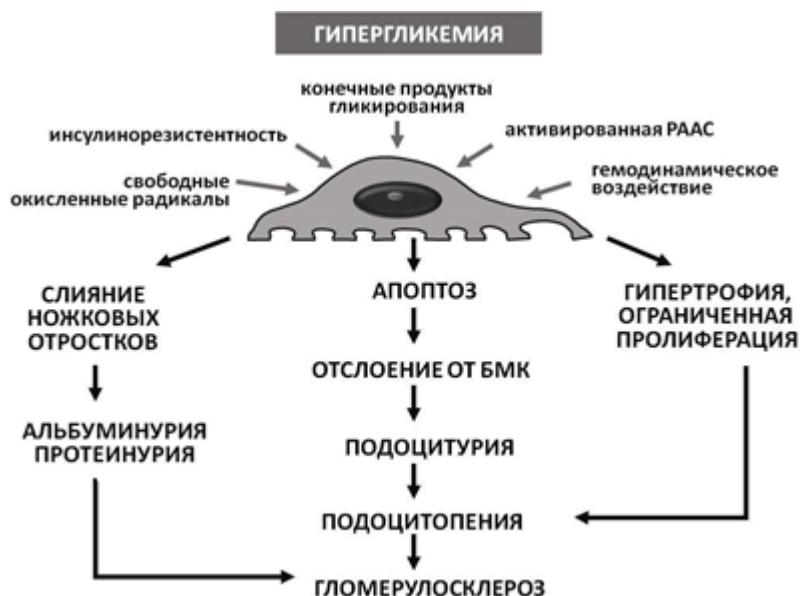


Рисунок 4 - Гипотетическая модель повреждения подоцитов при сахарном диабете

Феномен слущивания подоцитов в мочевое пространство и появление целых клеток в моче называется подоцитурия, уменьшение количества подоцитов в

клубочке – подоцитопения[5]. С момента раскрытия большого множества подоцитарных белков была определена сложнейшая молекулярная структура ножковых отростков подоцитов. В настоящее время установлено, что феномен сглаживания ножковых отростков представляет собой неспецифическую реакцию эпителиальной клетки на действие патогенного фактора. Он обусловлен нарушениями актинового цитоскелета подоцита с реорганизацией его в плотную сеть, что ведет к дислокации щелевидной диафрагмы к апикальной поверхности подоцита, слиянию фильтрационных щелей и увеличению проницаемости гломерулярного фильтра. Феномен сглаживания ножковых отростков подоцитов при СД 1 типа и СД 2 типа подтвержден целым рядом экспериментальных и клинических работ, установлена прямая корреляция выраженности данных изменений со степенью АУ [40–42]. Подоцитарные повреждения сопровождаются наличием в моче не только структурно-функциональных белков, но также и целых подоцитов. В экспериментальной модели поражения почек при СД 1 типа, а также СД 2 типа было четко показано, что на ранней стадии ДН снижена экспрессия подоцитами $\alpha 3\beta 1$ -интегринов (а в БМК – $\alpha 3\beta 1$ -интегриновых рецепторов), а результатом этого является то, что подоцит теряет связь с БМК, слущивается в мочевое пространство и экскретируется с мочой [43; 44]. Доказано в эксперименте, что эти изменения предшествуют выявлению минимальной АУ и уже обнаруживаются даже при течении СД не продолжительно – менее 5 лет [45; 46]. Все данные, которые были получены, говорят о раннем включении подоцитов в процессы запуска почечного повреждения при СД. Это сфокусировало интерес к подоцитам с целью разработок информативного метода доклинической диагностики и возможного замедления прогрессирования ДН.

Увеличение подоцитурии тесно связано с ростом АУ, прогрессированием протеинурии (ПУ). По данным, представленным Nakamura Т. с соавторами, подоциты в моче были обнаружены у 53% больных СД 2 типа с повышенной АУ и почти у 80% больных СД 2 типа с ПУ [47]. Отсоединившиеся от БМК подоциты вследствие нарушения клеточно-матриксных взаимодействий, таких нужных для

сохранения их жизнеспособности, погибают, однако было продемонстрировано и попадание, слушивание в мочу еще жизнеспособных подоцитов [48]. В условиях ограниченной способности подоцитов к пролиферации усиленная подоцитурия приводит к уменьшению количества подоцитов в клубочке – подоцитопении. Подоцитопения усугубляет нарушения гломерулярной проницаемости. На месте потери подоцита БМК оголяется, срастается с КБ [39]. Показано, что потери 20–40% подоцитов в клубочке сопровождаются образованием синехий с капсулой, при потере 40–60% подоцитов развивается гломерулосклероз, выраженное истощение подоцитов >60% приводит к необратимому дефекту гломерулярного фильтра с персистенцией высокой ПУ и к глобальному гломерулосклерозу с редукцией почечной функции [49]. Накоплено большое число клинических данных, свидетельствующих о том, что число подоцитов в клубочке является важной детерминантой прогрессирования поражения почек у больных СД. Так, Steffes и соавторы. убедительно продемонстрировали, что снижение числа подоцитов в клубочках прямо коррелирует с ростом ПУ, авторы показали возможность развития подоцитопении даже при небольшой длительности СД [50]. Meyer T. и соавторы в продольном исследовании популяции индейцев племени Пима, страдающих СД 2 типа, установили, что из всех морфологических характеристик число подоцитов в клубочке является наиболее достоверным предиктором прогрессирования ДН – ускоренный рост ПУ и снижение функции почек отмечались у больных с более выраженной подоцитопенией [51]. Обследовав европейскую когорту больных СД2, Vestra M. с коллегами показали, что число подоцитов в клубочках почек у пациентов с нормоальбуминурией уменьшается при дальнейшем развитии у них ПУ [52]. В кросс-секционном исследовании биоптатов почек в популяции больных СД 2 типа White K. с соавторами установили достоверную взаимосвязь между ПУ и снижением плотности подоцитарного слоя и уменьшением числа подоцитов в клубочках [53].

Среди механизмов повреждения подоцитов при сахарном диабете выделяют гипертрофию подоцитов, эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМТ) апоптоз и

аутофагию [8; 37; 54]. Подоциты являются высокоорганизованными, конечно дифференцированными клетками, утратившими в процессе эволюции способность к делению. Крылатое выражение «нервные клетки не восстанавливаются» можно в полной мере применить к подоцитам. Зрелые подоциты пребывают в G₀-фазе клеточного цикла. Прохождение фаз клеточного цикла клеток управляется системой, состоящей из тесно взаимодействующих белков циклинов и циклинзависимыхкиназ, а также регулирующих их активность ингибиторов. Синтез ряда белков клеточного цикла в зрелых подоцитах репрессирован, поэтому деление их ограничено. В частности, показана высокая экспрессия подоцитами ингибиторов клеточного цикла p57 и p27 и установлено, что гипергликемия дополнительно индуцирует синтез в подоцитах p27 [55; 56]. Для того чтобы подоциты смогли пролиферировать, им необходимо дедифференцироваться в незрелые формы и только потом вступить в G₁-фазу клеточного цикла, за которой последуют S-фаза синтеза ДНК, M-фаза митоза. Основываясь на связи между дифференцировкой и пролиферацией подоцитов, были выделены варианты течения подоцитопатий. При одном из них подоциты сохраняются дифференцированными, не способными к пролиферации, и заболевание протекает с уменьшением числа подоцитов в клубочках. К этой группе нефропатий относят практически все прогрессирующие формы гломерулярных болезней, включая ДН. По второму сценарию с дедифференцировкой, патологической пролиферацией и увеличением количества подоцитов протекает меньшая группа подоцитопатий – клеточный или коллапсирующий вариант фокально-сегментарного гломерулосклероза и мезангио-капиллярный гломерулонефрит с полулуниями. Одним из ответов подоцитов на действие повреждающих факторов является гипертрофия [26; 54]. Биохимически этот процесс характеризуется вступлением подоцитов в G₁-фазу клеточного цикла, сопровождающимся увеличением в клетке белка; однако под влиянием определенных обстоятельств подоциты останавливаются в G₁/S точке, за которой не следует свойственное S-фазе увеличение синтеза ДНК [57]. Именно эти внутриклеточные события определяют

увеличение размеров (но не числа) подоцитов. Полагают, что на начальном этапе повреждения гипертрофия подоцитов носит адаптивный характер. Таким способом близлежащие к месту повреждения эпителиальные клетки пытаются «залатать» участки БМК, обнажившиеся из-за потери подоцитов. Однако по истечении определенного времени гипертрофия становится малоадаптивной, поскольку индуцирующие ее механизмы одновременно активируют процессы апоптоза в гипертрофированных и прилежащих к ним подоцитах. Было продемонстрировано *in vitro*, что гипертрофию подоцитов вызывают высокие концентрации глюкозы [58; 59]. Ангиотензин II (АТ-II) индуцирует гипертрофию подоцитов и регулирует ее интенсивность посредством увеличения синтеза ингибиторов циклинзависимыхкиназ p21 и p27, что было подтверждено в работах *in vitro* и *in vivo* при диабете [60; 61].

Апоптоз подоцитов. При более длительных и/или выраженных воздействиях повреждающего фактора происходит активизация запрограммированной гибели подоцитов – апоптоза. Это еще один из механизмов потери подоцита при ДН. Регулирование выживаемости и смертности подоцита зависит от балансов про-, антиапоптотических факторов [62]. Апоптоз в подоцитах активируют ангиотензин II (АТ-II), TGF- β 1, Smad-7, активные радикалы кислорода, основной фактор роста фибробластов, апоптоз-индуцирующий фактор. Антиапоптотическим действием обладают циклин I, подоцитарные белки нефрин и CD2AP, внутриклеточный ингибитор апоптоза Bcl-2, сохраненные клеточно-клеточные контакты, VEGF, фактор роста гепатоцитов, инсулиноподобный фактор, БТШ-27. [39; 63]. В эксперименте на мышинных моделях ДН при СД 1 типа и СД 2 типа была продемонстрирована интенсивная экспрессия подоцитами маркеров апоптоза, коррелирующая с выраженностью АУ. У 37% мышей с СД 1 типа и у 27% мышей с СД 2 типа активация апоптоза предшествовала потере подоцитов в клубочках. Роль апоптоза в механизмах развития ДН подтверждена сегодня в экспериментальных и клинических исследованиях. Потере подоцитов способствует активация механизмов эпителиально-мезенхимальной

трансдифференцировки [64]. В эксперименте на животных моделях и в культуре эпителиальных клеток показано, что под воздействием главного индуктора ЭМТ – TGF- β 1 подоциты утрачивают способность экспрессировать специфические подоцитарные белки (нефрин, подоцин, Р-кадгерин, ZO-1 и др.), меняют эпителиальный фенотип и начинают экспрессировать маркеры мезенхимальных клеток (FSP-1, десмин, MMP-9, PAX-2 и др.). В результате этих процессов подоциты теряют нормальную структуру цитоскелета, клеточную полярность, межклеточные контакты, становятся подвижными, что приводит к их усиленному сближению с БМК и развитию подоцитурии [65]. Подобно фибробластам, трансдифференцированные подоциты приобретают способность продуцировать матриксные белки (фибронектин, коллаген и др.), ускоряя таким образом формирование гломерулосклероза. Аутофагия — это защитный механизм, необходимый для поддержания гомеостаза подоцитов. Одно исследование показало, что в нормальных условиях подоциты сохраняют высокий уровень аутофагии в течение длительного времени. Однако при ДН наблюдается снижение активности аутофагии подоцитов [66]. Постоянный высокий уровень глюкозы при ДН может ингибировать экспрессию связанных с аутофагией белков Beclin-1, Atg12 и LC3-II, ослаблять аутофагию подоцитов и препятствовать своевременному удалению поврежденных белков и цитотоксинов, образующихся в результате разрушения органелл, что приводит к необратимым повреждениям и дисфункции подоцитов. Тагава и др. впервые описали процесс аутофагии подоцитов при ДН. В настоящее время установлено, что в регуляции аутофагии подоцитов участвуют различные сигнальные пути, среди которых (mTOR), АМФ протеинкиназа, НАДН+ и другие. Гипергликемия активирует передачу сигналов mTOR, чтобы ингибировать аутофагию подоцитов и способствовать гипертрофии подоцитов и ЭМТ подоцитов. Гипергликемия снижает активность АМФ-протеинкиназы и увеличивает синтез СОР, которые ингибируют аутофагию подоцитов и способствуют апоптозу подоцитов.

Важную роль в регуляции функциональной активности подоцитов и их активации играет сигнальный путь, включающий протеинкиназу mTOR, которая относится к семейству киназ, и является ключевым функциональным компонентом комплексов TOR с I и TOR с 2 [67; 68]. Существенное отличие между двумя комплексами кроется в активности протеинкиназы mTOR [69]. Рапамицин (антибиотик) может подавить функциональность протеинкиназы только при вхождении в комплекс TOR с I [70]. Множество фундаментальных клеточных процессов, клеточная пролиферация, апоптоз и аутофагия в многообразных колониях клеток регулируются с помощью протеинкиназы mTOR [71; 72]. Такие же процессы происходят и в подоцитах, БМК, где увеличение активности функции комплекса TOR с I влечет за собой нарушение аутофагии, уменьшение выживаемости подоцитов и в конечном итоге приводит к подоцитопении, гломерулосклерозу и терминальной почечной недостаточности при ДН [73].

Показано, что повышение активности комплекса mTOR с I, в состав которого входит киназа mTOR, приводит к изменению распределения в подоцитах белка нефрина, нарушению функционирования фактора ZO-1 и запуску ЭМТ, что индуцирует отслоение и повреждение подоцитов. Вследствие этого, активация комплекса mTOR с I играет ключевую роль в повреждении подоцитов при экспериментальных моделях ДН у крыс. Не только комплекс mTOR с I в условиях гипергликемии участвует в регуляции выживаемости подоцитов. Комплекс mTOR с II, который не имеет чувствительности к рапамицину также вовлечен [74]. mTOR с II действует согласованно с mTOR с I, несет ответственность за активацию апоптоза, но и управляет функционированием цитоскелета, митохондриальной динамикой в подоцитах [69]. Структурный белок эзрин опосредует взаимодействие между плазматической мембраной и актиновым цитоскелетом, контролируя клеточную адгезию, фагоцитоз и морфологию клетки и обеспечивая интегративные связи между внутриклеточными сигнальными путями и мембранным транспортом. Показано, что в почечных клубочках пациентов с ДН экспрессия эзрина существенно снижена, что ассоциировано с нарушениями функциональной

активности подоцитов [75]. Негативным регулятором mTOR-зависимых сигнальных путей в подоцитах является аденозин АМРК, активность которой в почках при СД, в условиях гипергликемии и 5'АМФ-активируемая протеинкиназа — клеточная протеинкиназа (АМРК). Соответственно, восстановление активности АМРК, в том числе при лечении антидиабетическим препаратом метформином, экзогенным активатором АМРК, нормализует функционирование mTORc1, предотвращая ингибирующее влияние этого комплекса на аутофагию [69].

1.3.3 Медиаторы подоцитарного повреждения

Гипергликемия - это первопричина, пусковой фактор повреждения почек, факторы прогрессирования диабетической нефропатии включают внутриклубочковую гипертензию, системную гипертензию, дислипидемию. Факторы прогрессирования воздействуют на орган мишень с помощью специфических веществ или медиаторов повреждения. Представлены некоторые из них. Свободные радикалы, такие как супероксид (O_2^-) или гидроксил ($\bullet OH$), и нерадикальные активные формы кислорода (АФК), такие как перекись водорода H_2O_2 — это очень активные окислители, играющие важную роль в процессах клеточного метаболизма в физиологических условиях. Если высокие уровни АФК не используются локально для борьбы с патогенами, избыток АФК приводит к окислительному стрессу, что приводит к ряду клеточных изменений, которые могут привести к дисфункции органов, а при образовании в избыточных концентрациях АФК дезорганизуют структуру клеток и в конечном итоге приводят к гибели клеток [57]. Повышенная концентрация внеклеточной глюкозы (30 ммоль/л) может быстро стимулировать внутриклеточную генерацию АФК в подоцитах с помощью НАДФ-Н-оксидазы. У мышей со стрептозотоциновым СД выявлялись высокая экспрессия в ткани почки НАДФ-Н оксидазы и интенсивная почечная продукция свободных радикалов [6]. В то же время, ингибирование активности НАДФ-Н оксидазы с помощью апоцинина у мышей со

стрептозотоциновым СД приводило к уменьшению признаков повреждения подоцитов и снижению альбуминурии. В эксперименте на мышинной модели ДН при СД 1 типа были продемонстрированы защитные свойства антиоксиданта супероксиддисмутаза, проявлявшиеся уменьшением образования свободных радикалов, восстановлением экспрессии подоцитами $\alpha 3$ -интегринов, снижением альбуминурии. Другим ферментативным источником внеклеточных и внутриклеточных АФК при диабете является повышенная активность ксантиноксидоредуктазы [76], увеличение митохондриальных АФК и митохондриальная дисфункция. В эксперименте на мышинных моделях ДН была продемонстрирована индукция в подоцитах под воздействием свободно-окисленных радикалов процессов полимеризации актиновых волокон с последующим повреждением цитоскелета и слиянием ножковых отростков подоцитов, активация механизмов отщепления подоцитов от БМК и их апоптоза [6].

Процесс неферментативного гликирования белков (реакция между глюкозой и аминокислотными остатками белков) проходит в несколько стадий – в начале образуются обратимые продукты гликирования, а потом необратимые (конечные продукты гликирования (КПГ))[8]. Более существенное повреждающее воздействие оказывают КПГ, они также являются биомаркерами метаболического стресса. Накапливаясь в сосудах и различных структурах почек (мезангии, эндотелии, БМК, подоцитах), они оказывают токсические эффекты, способствующие формированию ДН. КПГ наносят повреждающее действие очень быстро, в течение месяцев и не подлежит обратному процессу, ввиду чего последующая компенсация уровня глюкозы не устраняет прогрессирование микроангиопатии. Подоциты являются мишенью для КПГ, о чем свидетельствует экспрессия ими рецепторов КПГ. Так, *in vitro* в культуре подоцитов было продемонстрировано снижение экспрессии нефрина под воздействием гликированного альбумина, который проявлял свои эффекты при соединении с рецепторами КПГ. Это было подтверждено у экспериментальных животных и у

пациентов с СД [57]. Установлено, что АТ-II через АТ 2-рецепторы активирует экспрессию подоцитами рецепторов КПП [6]. Эти сигнальные пути могут представлять интерес как потенциальный объект воздействия препаратов, блокирующих ренин-ангиотензин альдостероновую систему (РААС), и с точки зрения новых аспектов нефропротекции при СД – уменьшение токсических эффектов КПП. Повреждающее действие на подоциты КПП реализуют также путем активации апоптоза через повышение синтеза ингибитора клеточного цикла p27. В эксперименте у крыс с ожирением и СД 2 типа убедительно показано, что ингибиторы КПП (КИОМ-79, АЛТ-711, LR-90) тормозили прогрессирование ДН, в том числе, путем подавления апоптоза [6]. Это направление терапевтического воздействия при СД представляется перспективным и нуждается в дальнейшем исследовании.

Адипонектин. Адипонектин является наиболее распространенным пептидом, секретируемым адипоцитами, снижение последнего играет ведущую роль при ожирении, резистентности к инсулину и СД 2 типа. Помимо адипоцитов, другие типы клеток, такие как скелетные и сердечные миоциты и эндотелиальные клетки, также могут продуцировать этот адипоцитокин. Эффекты адипонектина опосредуются рецепторами адипонектина, которые встречаются в виде двух изоформ (AdipoR1 и AdipoR2) [77; 78]. Адипонектин является важным пептидным гормоном, регулирующим обмен глюкозы и катаболизм жиров. Он выполняет защитную функцию против гипергликемии, инсулинорезистентности, оказывает противовоспалительный и антиатерогенный эффекты за счет снижения синтеза ряда провоспалительных цитокинов (TNF- α , MCP-1, PAI-1) [79]. Недостаток выработки адипонектина имеет важное значение в развитии ряда органических поражений при ожирении, метаболическом синдроме, СД [80; 81]. Подоциты экспрессируют два вида рецепторов адипонектина (AdipoR1 и AdipoR2), что позволяет рассматривать подоциты в качестве «мишени» воздействия этого гормона. Sammisotto P.G. и соавторы продемонстрировали, что стимуляция рецептора адипонектина в подоцитах приводит к активации АМФ активированной

протеинкиназы, которая контролирует оксидативный стресс и апоптоз клеток [81]. В эксперименте показано, что у мышей, не способных синтезировать адипонектин, развивается тяжелая ПУ и подоцитарное повреждение, связанное со снижением в подоцитах АМФ-активируемой протеинкиназы, увеличением НАДФ-Н оксидазы (ключевого фермента образования COP), снижением белка ZO1 в подоцитах с разрушением их межклеточных контактов [79]. При электронной микроскопии ткани почек выявлялось слияние ножек подоцитов. В то же время, введение этим мышам рекомбинантного адипонектина сопровождалось восстановлением активности АМФ-активируемой протеинкиназы, снижением НАДФ-Н оксидазы и уменьшением АУ [27]. Lee с соавт. продемонстрировали, что применение БРА у экспериментальных животных с СД2 сопровождалось уменьшением инсулинорезистентности, увеличением в жировой ткани числа малых дифференцированных адипоцитов – продуцентов адипонектина, а также ростом сывороточного уровня адипонектина и снижением провоспалительных цитокинов [82]. Данные результаты характеризуют еще одну сторону протективного действия препаратов, блокирующих РААС, и расширяют область их применения.

Микро-РНК. Микро-РНК – класс некодирующих одноцепочечных РНК, которые присоединяются к длинным молекулам РНК и не дают им транслироваться в белки, регулируя, таким образом, биологические функции организма. В настоящее время идентифицировано пять специфичных для почек микро-РНК, которые объединены в два класса по месту локализации – преимущественно в корковом слое и преимущественно в мозговом [8]. Накапливаются данные о важной роли микро-РНК в регуляции функции подоцитов. Так, в эксперименте на моделях трансгенных мышей было продемонстрировано, что подавление в подоцитах активности микро-РНК приводило к развитию тяжелой ПУ, сопровождающейся структурными изменениями щелевидной диафрагмы, снижением экспрессии в подоцитах нефрина и подоцина, слиянием ножковых отростков подоцитов, изменениями цитоскелета [83; 84]. Kato M. и соавт. показали, что уровень микроРНК-192 значительно выше у животных с СД1 и СД2 по

сравнению со здоровыми особями. Повышенный уровень микро-РНК-192 прямо коррелировал с уровнем профиброгенного TGF- β 1 и коллагена 1 α 2 [85]. Дальнейшее изучение механизмов регуляции биологических процессов в почке при участии микро-РНК раскрывает возможности их использования в качестве биомаркеров повреждения почек, в т.ч. при СД. Перспективными представляются разработки новых методов лечения СД и ДН на основе регуляции с помощью микро-РНК синтеза отдельных белков (например, инсулина, провоспалительных, профиброгенных цитокинов, факторов апоптоза и др.) [86].

1.4 Повреждение структурных белков подоцита при диабетической нефропатии

Выявлены и определены особые адгезивные соединения, которые образуют фильтрационные щели, основной компонент которых и есть трансмембранный белок нефрин. Нефрин участвует в связывании с актиновым цитоскелетом подоцита с одной стороны, а с другой стороны, в формировании межподоцитарной щелевой диафрагмы через взаимодействие экстрацеллюлярных доменов между собой. Нефрин входит в суперсемейство иммуноглобулинов [87]. Изначально нефрин обнаружен как продукт гена NPHS1, который имел мутацию при врожденном нефротическом синдроме, характерном для жителей Финляндии [87]. Генетические мутации NPHS1 являются причиной нарушения фильтрационного барьера почки и вызывают альбуминурию и протеинурию. В структуре щелевой диафрагмы одна молекула нефрина заключает пространство между ножками подоцитов, создавая диафрагму шириной около 45 нм [88]. Нижняя часть диафрагмы шириной 23 нм образована другим интегральным мембранным белком Neph1, который, как и нефрин, содержит Ig-подобный домен и относится к суперсемейству иммуноглобулинов. Таким образом, нефрин и белок Neph1 совместно создают щелевую диафрагму, представляющую собой гибкое межклеточное соединение. Однако удельная доля гомо- и гетеродимерных комплексов, образующихся между

молекулами нефрина и белка Neph1, в щелевой диафрагме сравнительно низка, вследствие чего в ее верхней части в основном присутствуют мономерные формы нефрина, в то время как в нижней части мономерные формы Neph1, причем молекулы обоих белков характеризуются квазипериодическим расположением на расстоянии 7 нм друг от друга [88]. Отсутствие прочных комплексов между молекулами нефрина и Neph1 обеспечивает достаточно высокую проницаемость щелевой диафрагмы и предотвращает ее закупорку другими белками. В дополнение к трансмембранным белкам щелевая диафрагма также содержит большой набор цитоплазматических адаптерных белков, которые ассоциированы с нефрином, вовлечены в реализацию сигнальных функций и осуществляют физическую взаимосвязь между белковым комплексом щелевой диафрагмы и актиновым цитоскелетом [33]. При этом необходимо отметить, что актиновый цитоскелет играет центральную роль в поддержании структурной целостности подоцитов [30]. Нефрин связывается с актиновым цитоскелетом через адаптерный белок CD2AP, который напрямую взаимодействует с актином [89], и через адаптерный белок Nck, который связан с белками, регулирующими реорганизацию актина [90]. В экспериментах на модели иммунного повреждения подоцитов (Хеймановский нефрит) было показано, что при воздействии мембраноатакующего комплекса (C5b-9) на подоцит происходит повреждение его актинового цитоскелета, отщепление экстрацеллюлярной части молекулы нефрина и экскреция ее с мочой (нефринурия) [76]. При этом в ткани почки еще до развития ПУ при электронной микроскопии отчетливо визуализируются фокусы деструкции щелевидной диафрагмы, соответствующие участкам сглаженных отростков подоцитов и сниженной экспрессии нефрина. В более поздний период, при развитии массивной потери белка с мочой, количество дефектов в щелевой диафрагме резко возрастает. Они распределяются неравномерно, происходит чередование с областями целостной щелевидной диафрагмы [89]. Подобные признаки страдания подоцита с экскрецией нефрина в мочу обнаруживаем и при СД [27; 91]. Pätäri A. и соавторы провели кросс-секционное исследование у

больных СД 1 типа и определили уровни экскреции нефрина с мочой методом иммуноблоттинга [8; 92]. Авторы показали, что нефрин экскретировался с мочой у 30% больных с СД и минимальной альбуминурией (до 30 мг г/кр мочи), у 17% – с повышенной АУ, у 28% – с массивной ПУ. А вот в моче здоровых лиц нефрин не определялся. По данным Jim V. с соавторами нефринурия была выявлена у всех 100% больных СД 2 типа с ПУ и повышенной АУ и только у 54% больных с нормальной альбуминурией [91]. Таким образом, результаты нескольких исследований позволяют рассматривать повышение нефрина в моче у больных СД в качестве самого раннего маркера наступления ДН. При изучении биоптатов почек у животных моделей и у больных с СД было выявлено уменьшение продукции нефрина в гломерулах, а также установлена взаимосвязь этих нарушений с изменениями структуры ножковых отростков подоцитов [46].

Подокаликсин (подоцин). Белки, расположенные в апикальной части подоцитов, в первую очередь модифицированный силовыми кислотами белок подокаликсин, также важны для нормального функционирования клубочков. Подокаликсин является интегральным белком, внеклеточный домен которого модифицирован отрицательно заряженным гликокаликсом. При этом цитоплазматический домен подокаликсина тесно ассоциирован с актиновым цитоскелетом [93]. Отрицательный заряд внеклеточных доменов сialiрированного

Подокаликсина позволяет удерживать фильтрующие щели открытыми за счет электростатического отталкивания между соседними отрицательно заряженными группами этого и других белков [94]. Соответственно, нокаут гена, кодирующего подокаликсин, особенно в подоцитах, приводит к развитию альбуминурии и структурным дефектам отростков стопы подоцитов [95].

Миндин (Mindin), также называемый спондин 2, это белок внеклеточного матрикса, который в избытке экспрессируется в селезенке и лимфатических узлах. Он относится к семейству миндин F спондинов, секретируемых внеклеточным матриксом. Все члены семейства mindin-FS разделяют три структурных домена. Два домена, FS1 и FS2 (для F-spondin), уникальны для этого семейства. Миндин

представляет из себя белок с доменами F-спондина 1 и 2, расположенными на N- и C-концах, а также повторами тромбоспондина типа 1 (TSR) на C-конце. Миндин был в основном изучен как важнейший фактор иммунного ответа, в экспериментальных исследованиях было показано, что данный цитокин необходим для выработки воспалительных цитокинов *in vivo* во время септического шока, вызванного эндотоксином. Макрофаги и тучные клетки мышей с дефицитом миндина демонстрируют дефектные реакции на широкий спектр микробных стимулов. Mindin распознает липополисахариды через свой домен TSR [96]. Миндин также функционирует как опсонин для фагоцитоза макрофагов бактерий. Мыши, у которых отсутствует миндин, демонстрируют дефектный клиренс вируса гриппа. В эксперименте на мышах с индуцированным СД 2 типа концентрация миндина в моче у контрольных мышей, оказалась, существенно ниже, чем уровень этого цитокина в моче мышей с индуцированным СД. Миндин был обнаружен в культуре подоцитов, стимулированных гипергликемией, экскреция миндина коррелировала уровнем альбуминурии и протеинурии [97]. Недавние исследования показали, что миндин необходим для инициации иммунного ответа и представляет собой уникальную молекулу, экспрессируемую поврежденными подоцитами в условиях высокого содержания глюкозы [98]. На основании недавних открытий можно предположить о возможности использования экскреции миндина для диагностики ДН [99].

1.5 Подоциты как источник синтеза компонентов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы

Ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС). К началу XXI в. было достоверно установлено, что компоненты РААС синтезируются локально в тканях различных органов, в том числе в почках. Именно это обстоятельство объясняет во многом патогенетическую роль РААС в поражении органов-мишеней даже при

нормальной или низкой ее активности в системном русле. Повреждающее действие активированной локально-почечной РААС наглядно проявляется в ходе развития ДН, в частности, в индукции подоцитарной дисфункции. Подоциты являются одним из источников синтеза компонентов РААС в почке. Установлено, что под воздействием повреждающих факторов эти клетки экспрессируют ангиотензин -1 (АТ1) и, возможно, ангиотензин -2 (АТ2) -рецепторы, приобретая, таким образом, способность отвечать на действие циркулирующего АТ-II. Высокие концентрации глюкозы индуцируют синтез подоцитами АТ-II через активацию экспрессии ангиотензиногена [76]. Помимо гипергликемии, продукцию АТ-II подоцитами активируют TGF- β 1, реактивные кислородные радикалы, механическое растяжение, компоненты протеинурии [100; 101]. Недавно получены данные об экспрессии подоцитами рецептора проренина, предполагают прямое модулирующее действие этого компонента РААС на подоциты [102]. Показана возможность рецептора проренина связываться с проренином и ренином. Эти данные раскрывают перспективы воздействия на подоцитарную дисфункцию с помощью ингибиторов ренина. Было также продемонстрировано, что прямой ингибитор ренина алискирен может подавлять продукцию подоцитами АТ-II не только через традиционный сигнальный путь с прорениновым рецептором, но и посредством внеклеточной сигнал-связанной протеинкиназы. По-видимому, данным механизмом можно объяснить дополнительное нефропротективное действие прямых ингибиторов ренина в комбинации с БРА, которое наблюдали Parving H. при лечении больных ДН при СД2 [103]. Подоциты экспрессируют минералокортикоидные рецепторы, необходимые для связи с еще одним компонентом РААС – альдостероном. Это подразумевает реализацию через данную связь его системных и плеiotропных эффектов. Применение антагонистов альдостерона может быть еще одним из путей коррекции подоцитарных нарушений, что нуждается в дальнейшем изучении. АТ-II прямо или через TGF- β 1 активирует процессы апоптоза подоцитов через Smad-синальные пути и подавление ядерного фактора транскрипции NF κ B [104]. Выше указывалось, что

подоциты являются конечно дифференцированными клетками, неспособными к клеточному делению, что обусловлено высокой активностью в них ингибиторов клеточного цикла p57 и p27. AT-II, гипергликемия дополнительно активируют синтез в подоцитах ингибитора циклинкиназы p27 [55], в результате чего подоциты из-за стойкой супрессии механизмов пролиферации не могут восполнить свои потери. Эти процессы способствуют развитию подоцитопении. Под воздействием AT-II подоцит продуцирует ряд провоспалительных цитокинов, участвуя, таким образом, в местной воспалительной реакции. AT-II также стимулирует синтез подоцитами матриксных белков, ускоряя формирование гломерулосклероза. Исследованиями в клеточной культуре продемонстрировано, что AT-II вызывает деполяризацию подоцитов, способствуя нарушению их барьерной функции. AT-II модулирует дисфункцию подоцитов, подавляя экспрессию важного структурного белка щелевидной диафрагмы – нефрина. В экспериментальных исследованиях на модели ДН у крыс со стрептозотоцин-индуцированным СД (модель СД1) было показано, что подавление РААС с помощью ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (ИАПФ) или блокаторов рецепторов ангиотензина II (БРА) оказывало защитное действие на подоциты, восстанавливая нормальную экспрессию нефрина, предупреждая потерю подоцитов [105]. Подобные данные были получены и в клинических условиях – терапия ИАПФ больных СД 2 типа тормозила снижение экспрессии нефрина в подоцитах и уменьшала выраженность подоцитурии [47]. Молекулярные механизмы AT-II-индуцированной супрессии нефрина, приводящие к потере подоцитов, до конца не расшифрованы. Обсуждается роль процессов трансактивации рецептора эпидермального фактора роста с помощью AT1- и AT2-рецепторов подоцитов с вовлечением через эти сигнальные пути митоген-активированной протеинкиназы [106]. Избирательной проницаемости гломерулярного фильтра способствует отрицательный заряд его структурных компонентов, в том числе подоцитов. Снижение продукции протеогликанов приводит к утрате зарядоселективности фильтрационного барьера и развитию ПУ. Исследования с использованием клеточной культуры подоцитов

человека продемонстрировали значительное снижение в подоцитах после экспозиции с АТ-II отрицательно заряженного протеогликана агрина [50]. Эти результаты могут отчасти объяснять антипротеинурический эффект ИАПФ и БРА при ДН. АТ-II, связываясь с АТ1-рецепторами на подоцитах, индуцирует синтез ими VEGF-медиатора, играющего важную роль в формировании сосудистых осложнений при СД [107], в том числе, в механизмах повышенной гломерулярной проницаемости у пациентов с ДН [108]. Через экспрессируемые подоцитами АТ2-рецепторы осуществляется стимуляция синтеза в подоцитах индуцируемого гипоксией фактора-1 α (HIF-1 α), регулирующего синтез VEGF. АТ-II через активацию НАДФ-Н оксидазы способствует образованию свободных окисленных радикалов, которые инициируют при ДН целый ряд патологических процессов в подоцитах, приводящих в конечном итоге к их потере [61].

1.6 Медиаторы фиброангиогенеза

Трансформирующий фактор роста β 1 (TGF- β 1). TGF- β 1 играет важную роль в патогенезе ДН. С помощью метода микропункций было подтверждено увеличение содержания этого профиброгенного цитокина в ткани почек крыс со стрептозотоциновым СД. Гипергликемия, АТ-II, конечные продукты гликирования (КПГ), компоненты ПУ (преимущественно альбумин) активируют синтез подоцитами TGF- β 1 [66; 109]. Значительное повышение TGF- β 1 в подоцитах индуцирует процессы их апоптоза, что способствует развитию подоцитурии и подоцитопении. TGF- β 1 регулирует процессы апоптоза через Smad-сигнальные пути [66; 110; 111]. Показано, что при стимуляции рецепторов TGF- β 1, которые в значительном количестве экспрессируются на поверхности подоцитов при СД, происходит активация клеточного трансдуктора Smad3, который транслоцируется в ядро подоцита и стимулирует ряд проапоптотических сигнальных молекул. Кроме того, TGF- β 1 через Smad3 активирует Smad7 сигнальный путь, который, в

свою очередь, ингибирует NF-κB, кодирующий синтез отдельных факторов клеточной выживаемости [57; 66]. Наконец, TGF-β1 активирует MAPK-p38, через которую запускается ряд проапоптотических факторов. В итоге активируются каспазы, разрушающие ядерный материал подоцитов с последующей клеточной гибелью. TGF-β1 является ключевым медиатором ЭМТ, поскольку индуцирует все характерные для нее процессы, включая разрушение десмосом, клеточно-матриксное ремоделирование, образование стрессовых волокон (ремоделирование F-актина), активацию факторов прогениторных клеток [112]. В ряде исследований была показана важная роль TGF-β1 как профиброгенного цитокина и индуктора ЭМТ при целом ряде заболеваний почек, в том числе ДН [6]. В работе Li и соавт. продемонстрировано изменение фенотипа подоцитов под воздействием TGF-β1, характеризующееся снижением экспрессии ими основных белков щелевидной диафрагмы, увеличением экспрессии матриксных белков (коллагена, фибронектина), матриксной металлопротеиназы 9, что сопровождалось ростом альбуминурии [113]. Yamaguchi Y., используя биоптаты почек и образцы мочи у больных СД2, обнаружил, что уровень FSP1 (маркера фибробластов) в подоцитах коррелировал с макроальбуминурией, отщеплением подоцитов от БМК и более выраженными склеротическими изменениями в клубочках [114].

Коллаген IV типа, основной коллагеновый компонент БМК и мезангиального матрикса, он представлен в виде тройной спирали α цепей с неколлагеновым глобулярным доменом на его карбоксильном конце. Коллаген IV типа наиболее изучен при поражении почек при синдроме Альпорта [115]. В настоящее время появилось много данных о коллагене IV типа как о маркере раннего фиброобразования клубочка почек при разных формах поражения почек, в том числе ДН [116]. Измерение концентрации этого белка во внеклеточном матриксе и в биологических жидкостях может быть полезным показателем раннего поражения почек при ДН. Коллаген IV типа – составляет основу структуры БМК. Исследования на животных моделях задокументировали, что расширение внеклеточного матрикса клубочков, ответственное за увеличение площади

поверхности фильтрации, связано с избыточным производством коллагена IV типа. Воздействие повреждающих факторов (иммуновоспалительных и профиброгенных, метаболических) активирует TGF- β 1, что в свою очередь стимулирует экспрессию подоцитами коллагена IV типа, способствуя утолщению БМК и развитию гломерулосклероза. [117]. Клинические испытания показали, что у пациентов с СД по сравнению со здоровыми контрольными группами определяется повышенный уровень в моче коллагена IV типа. В ряде экспериментальных работ показано, что концентрация коллагена IV типа в моче [118] имела статистически значимые корреляции с традиционными маркерами почечной дисфункции. Часть авторов говорит, что предотвращение накопления коллагена IV типа предупреждает развитие таких классических проявлений начальной гломерулопатии, как гипертрофия клубочков и гиперфильтрация [99; 116].

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF). VEGF хорошо известен как фактор выживаемости эндотелиальных клеток и основной регулятор ангиогенеза. В последние годы ему придается большое значение в развитии сосудистых осложнений СД, в том числе ДН [119; 120]. В эксперименте на животных моделях ДН при СД 1 типа и СД 2 типа была показана четкая взаимосвязь повышенной экспрессии VEGF в почках с развитием ПУ, в то время как нейтрализация VEGF путем введения антител к этому фактору снижала экскрецию альбумина с мочой [13]. Эти данные свидетельствуют об участии VEGF в механизмах повышения проницаемости гломерулярного фильтра. Наиболее выраженная экспрессия этого фактора при ДН наблюдалась именно в подоцитах [66]. Она выявлялась уже на ранних стадиях поражения почек и значительно снижалась в очагах гломерулосклероза, что, по-видимому, связано с развитием подоцитопении [76]. У экспериментальных животных и у больных с ДН также была выявлена повышенная экскреция VEGF с мочой [121; 122]. *In vitro* и *in vivo* было показано, что синтез VEGF в подоцитах активируют высокие концентрации глюкозы, АТ-II (через АТ1- и АТ2-рецепторы), TGF- β 1, HIF-1 α (через АТ-II- и АТ2-

рецепторы), конечные продукты гликирования, свободные окисленные радикалы [76]. В физиологических условиях синтезируемый в подоцитах VEGF, соединяясь со своими рецепторами VEGFR2, вызывает аутокринную активацию сигнальных путей собственной выживаемости. Кроме того, VEGFR2 образует связь с нефрином и актином, а VEGF, соединяясь с комплексом VEGFR2-нефрин-актин, активирует его и регулирует таким образом размеры и форму подоцитов [123]. Нефрин, кроме своей роли как основной структурно-функциональной единицы щелевой диафрагмы, оказывает антиапоптотический эффект и действует как аутокринный фактор выживаемости подоцита. В эксперименте установлено, что антиапоптотическое действие нефрина связано с его фосфорилированием под влиянием VEGF [124; 125]. Фосфорилирование цитоплазматического домена нефрина с помощью VEGF обеспечивает, в свою очередь, фосфорилирование протективных антиапоптотических молекул (обсуждается активация протеина Bcl-2) и повышение жизнеспособности подоцитов. Напротив, уменьшение фосфорилирования нефрина способствует его связыванию с β -аррестином-2, эндоцитозу сформированного комплекса, ослаблению сигнала и созданию условий для апоптоза подоцитов. При СД нарушается ауторегуляция VEGF-сигнальных путей. Так, VEGF ингибирует образование нефрина в подоцитах, способствуя, таким образом, нарушению функции ножковых отростков. А снижение VEGF ослабляет выживаемость подоцитов, ускоряя развитие подоцитопении. Сегодня получены данные, свидетельствующие о том, что VEGF стимулирует продукцию подоцитами $\alpha 3$ цепи коллагена IV типа, эффект этот реализуется через VEGFR1-сигнальные пути. Продукция подоцитами коллагена способствует утолщению БМК и нарушению ее проницаемости, а также формированию очагов гломерулосклероза. Полагают также, что синтез подоцитами коллагена IV типа медируют TGF- $\beta 1$ и фактор роста соединительной ткани (CTGF), образование которых, в свою очередь, активирует VEGF [125]. В подтверждение существования такого механизма добавление к культуре мышинных подоцитов специфического

ингибитора рецептора VEGF приводило к снижению на 50% TGF- β 1-индуцированной продукции подоцитами α 3коллагена (IV) [76; 119].

1.7 Подоциты как мишень для лечения диабетической нефропатии

Наличие у пациентов с СД и у животных с экспериментальными моделями заболеваний почек хорошо выраженных и свободно определяемых повреждений подоцитов, а также уменьшение их количества в результате апоптоза и ЭМТ-индуцированного отслоения подтверждает возможность использования подоцитов, как терапевтическую мишень для лечения патологии почек, в том числе и поражение почек при диабете. Гипертрофия, апоптоз и ЭМТ усиливаются при прогрессировании заболеваний почек. Анализ биопсии почек у пациентов с СД 1-го и 2-го типов показал тесную взаимосвязь между расширением отростков подоцитов стопы, с одной стороны, и снижением расчетной плотности длины фильтрующих щелей и числа подоцитов на один клубочек, с другой. Эти закономерности выявлялись как у пациентов с клинической нефропатией, так и у пациентов с СД, но без клинических проявлений ДН [45]. Исследования, проведенные на экспериментальных животных, показали сходные результаты [7]. У здоровых людей подоциты в моче не выявляются, в то время как у больных СД отмечается, хотя и в различной степени выраженная, подоцитурия, как результат отрыва подоцитов от почечных клубочков. В моче пациентов с СД, независимо от наличия или отсутствия у них протеинурии, обнаружены специфические маркеры подоцитов - нефрин и подокаликсин. Потеря подоцитов, определяемая подоцитурией или маркерами подоцитов в моче, служит предиктором прогрессирования почечной недостаточности у пациентов с СД и пациентов с СД 2-го типа отслоение подоцитов отрицательно коррелирует с числом подоцитов и положительно с увеличением альбуминурии. При этом количество подоцитов не коррелирует с альбуминурией. Это указывает на то, что повреждение подоцитов, а не только их потеря, является тем фактором, который отвечает за повышенную

проницаемость гломерулярного фильтрационного барьера при ДН. Таким образом, терапевтические стратегии, направленные на предотвращение повреждения подоцитов до развития альбуминурии, и, в первую очередь, ингибирование ренин-ангиотензиновой системы, вовлеченной в развитие ДН, представляют большой практический и теоретический интерес. Поскольку имеются многочисленные свидетельства того, что ингибирование ренин-ангиотензиновой системы и блокирование связывания АТ II с рецепторами приводит к ослаблению протеинурии и задерживает прогрессирование хронического заболевания почек [126–128], то одним из направлений лечения и предупреждения ДН является разработка подходов для подавления активности гиперактивированной в условиях СД ренин-ангиотензиновой системы. Эти подходы в значительной степени направлены на подоциты, как основные мишени АТ II.

Показано, что лечение животных с индуцированным стрептозотоцином диабетом с помощью ингибиторов АПФ и антагонистов ангиотензиновых рецепторов, а также их комбинаций, ослабляет повреждение подоцитов, снижает потерю нефрина [129; 130], а также уменьшает содержание десмина, маркера ЭМТ [131]. Эти изменения сопровождались ослаблением процесса, расширением стопы подоцитов, восстановлением нарушенной регулярности смыкания отростков стопы и уменьшением потери подоцитов. Все эти эффекты были ассоциированы со снижением протеинурии у животных с диабетом. Исследование биопатов почек у пациентов с СД 2-го типа, которые в течение двух лет получали ИАПФ периндоприл, показало, что содержание нефрина у них было сходным с таковым в контрольной группе, в то время как у диабетических пациентов без такого лечения уровни нефрина были достоверно снижены [132]. Комплексное лечение пациентов с СД 2-го типа с помощью ингибиторов АПФ и блокаторов ангиотензиновых рецепторов приводило к ослаблению подоцитурии и снижало уровни в моче таких маркеров повреждения подоцитов, как синаптоподин, нефрин и подоцин [133]. Усиление экспрессии АПФ 2 в подоцитах ослабляло АТ II-индуцированную активацию апоптоза и, тем самым, восстанавливало число подоцитов у крыс с

индуцированным диабетом. Это указывает на то, что коррекция активности ренин-ангиотензиновой системы и ее сигнальных путей в подоцитах является одним из подходов для предотвращения подоцитурии и нарушений гломерулярного фильтрационного барьера. Одним из эффективных подходов для предотвращения подоцитурии является комбинированное использование антагонистов ангиотензиновых рецепторов и антиоксиданта нитроолеиновой кислоты [134]. Хорошие результаты в отношении нормализации количества подоцитов и снижения протеинурии были показаны при совмещении блокаторов активности ренин-ангиотензиновой системы, ингибиторов АПФ и антагонистов АТ I-R, со статинами [135], а также при совместном применении ингибиторов АПФ и ингибитора эндотелина-1 [136]. При изучении нокаутных мышей с дефицитом лептина было обнаружено, что заместительная терапия лептином полностью восстанавливала отмечаемую уже на ранних стадиях ДН потерю подоцитов и нормализовала плотность подоцитов в почечных клубочках. При этом лечение ингибиторами АПФ и антагонистами ангиотензиновых рецепторов в этом случае не было эффективным [137]. Это свидетельствует в пользу того, что дефицит лептинового сигналинга в подоцитах приводит к нарушению их функций, и подавление активности ренин-ангиотензиновой системы в этом случае не позволяет восстановить гломерулярную фильтрацию. Положительный эффект на функции подоцитов имеет и введение инсулина NOD-мышам с СД. Инсулиновая терапия предотвращала повреждение почек, нормализовала число подоцитов и предупреждала развитие альбуминурии у диабетических мышей [138]. Таким образом, для предотвращения поражений почек при СД необходим комплексный подход, который включает модуляцию активности ренин-ангиотензиновой системы, применение препаратов с антиоксидантной активностью, статинов и гормональных регуляторов метаболических процессов - препаратов лептина инсулина [101].

Рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом (PPAR γ)
Рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом (PPAR), – группа ядерных

рецепторов, функционирующих в качестве фактора транскрипции. Субтип PPAR γ играет важную роль в регуляции жирового обмена, а также индуцируемого липидами воспаления. Ряд синтетических лигандов PPAR γ являются эффективными средствами для лечения дислипидемии и диабета. В частности, розиглитазон (агонист PPAR γ) корригирует инсулинорезистентность, гиперинсулинемию, гипергликемию [139; 140]. В ряде клинических исследований было продемонстрировано, что агонисты PPAR γ снижают АУ у пациентов с ДН. Сегодня получены данные, объясняющие подобный эффект агонистов PPAR γ , в том числе, путем воздействия на подоциты. Так, было показано, что препараты этой группы усиливают экспрессию подоцитами нефрина [141], обсуждается возможность прямого взаимодействия PPAR γ как транскрипционного фактора, с промотором гена нефрина. Подоциты являются инсулин-чувствительными клетками и способны переносить глюкозу с помощью GLUT1-транспортера. Показано, что этот процесс зависит от продукции нефрина, который необходим для транслокации GLUT1 в подоциты [142]. Помимо влияния на экспрессию нефрина, подтверждена способность агонистов PPAR γ тормозить апоптоз подоцитов и оксидативный стресс [143].

1.8 Заключение по обзору литературы

По современным представлениям диагностика ДН или поражения почек при сахарном диабете базируется не только на определении экскреции альбумина с мочой, но и на оценке СКФ, сразу на двух показателях. Это в полной мере сопоставимо с морфофункциональными изменениями в клубочке при почечной дисфункции, ведь оба предиктора указывают на разные стороны течения почечной патологии и ее прогрессирования. Повышенная альбуминурия, прежде всего, связана с нарушением проницаемости гломерулярного фильтра, а вот ухудшение СКФ, с точки зрения патофизиологии говорит об уменьшении числа функционирующих нефронов в почке. Морфологические изменения в подоцитах

после повреждения при ДН включают гипертрофию подоцитов, эпителиально-мезенхимальную трансдифференцировку подоцитов (ЭМТ), отслоение подоцитов и апоптоз подоцитов.

Хорошо известно, что в первые пять лет от дебюта заболевания уже возможно определить функциональные и структурные изменения в почках (стадия гиперfiltrации и стадия утолщения БМК) в отсутствие классических признаков почечной дисфункции, и поиск маркеров, отражающих эти начальные изменения в клубочках почек особенно актуален.

Патогенез развития и прогрессирования ДН сложный и многофакторный с участием многих путей и медиаторов. Активация РААС, липотоксичность, образование КПП, активация трансформирующего фактора TGF- β 1, активация АФК, микро-РНК, ангиогенез являются важными путями развития и прогрессирования ДН. Каждый путь вызывает повреждение через несколько медиаторов или взаимодействует с другими путями. Пути и медиаторы во многом пересекаются; например, АГ II вызывает повреждение из-за окислительного стресса, и, наоборот, окислительный стресс вызывает повреждение из-за РААС. Оксидаза никотинамидаденинфосфатдегидрогеназы (НАДФН) увеличивает TGF- β , и, наоборот, TGF- β увеличивает АФК за счет активации НАДФН-оксидазы. Вот почему точный патогенетический механизм и молекулярная заболеваемость ДН до сих пор полностью не изучены, а вклад каждого пути в индукцию ДН до конца не определен.

В течение последних лет убедительно подтверждено участие подоцитов в механизмах развития ДН. Структурные и функциональные нарушения подоцитов, ассоциированные с метаболическими, эндокринными и гемодинамическими расстройствами при СД, наблюдаются уже на ранних этапах формирования ДН, предшествуя развитию клинически значимой АУ. Нарастание признаков подоцитопатии тесно связано с морфологическими и клиническими проявлениями прогрессирования ДН. В настоящее время появились доступные методы неинвазивной оценки подоцитарного повреждения с помощью мочевых тестов (в

частности, определение нефринурии и подоцитурии). Их использование для ранней диагностики, мониторингования течения и оценки риска прогрессирования ДН представляет большой интерес и, несомненно, имеет перспективы. Расшифровка механизмов реализации подоцитарного повреждения при СД расширяет показания к назначению уже традиционно применяемых диабетологами средств нефропротекции, в частности, с целью нивелирования неблагоприятных эффектов активированной РААС на подоциты. Перспективными представляются новые подходы к торможению ДН путем целенаправленного воздействия на отдельные медиаторы и сигнальные пути подоцитарной дисфункции (VEGF, TGF- β 1, адипокины, PPAR γ и др.) [8].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на базе Университетской Клинической Больницы (УКБ) №3 «Клиники ревматологии, нефрологии и профпатологии имени Е.М. Тареева» Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова (Сеченовский университет) с 09.2013 по 03. 2019 года. Все пациенты подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Дизайн исследования: 1 часть - одномоментное исследование мочевых биомаркеров у больных СД 1 и 2 типа в зависимости от степени поражения почек, оценка их клинической и диагностической значимости для развития и прогрессирования ХБП. 2 часть – проспективное исследование. Оценка прогностического значения изученных мочевых тестов, у 20 случайно отобранных пациентов, участвовавших в нашем исследовании, в течение ближайших 3-х лет в зависимости от исходно выявляемого уровня биомаркеров в моче.

Локальный этический комитет (ЛЭК) ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова постановил одобрить исследование на заседании от 13 ноября 2013 г (выписка из протокола N 11-33).

2.1 Клиническая характеристика обследованных больных

В настоящее было отобрано 89 больных СД 1 и 2 типа и 15 здоровых добровольцев. Критерием включения в исследование были: диагноз Сахарный диабет, установленный на основании рекомендаций ВОЗ (1999-2013г), возраст от 18 до 79 лет включительно[5]. Из исследования исключались пациенты: с декомпенсированным СД (уровень HbA1c>10%); протеинурией свыше 2 г в сутки; гематурией; выраженным снижением функции почек (СКФ < 15 мл/мин/1,73 м²); острыми воспалительными заболеваниями любой этиологии; острым поражением

почек; острыми сердечно-сосудистыми катастрофами в момент наблюдения и в течение 1 года до обследования; сердечной недостаточностью III-IV функционального класса по NYHA (национальная классификация Нью-Йоркской ассоциации кардиологов); тяжелой артериальной гипертензией - АД свыше 180/110 мм рт.ст. на момент исследования; ишемической болезнью почек; нефролитиазом; системным васкулитом; амилоидозом; хроническим гломерулонефритом; онкологической патологией; беременные [144]. В связи с развитием осложнений из исследования было исключено 7 пациентов, у двоих был установлен диагноз острого инфаркта миокарда, у пятерых пациентов развилась инфекция мочевыводящих путей.

Больных СД 1 типа включено 30 человек, возраст больных от 18 до 79 лет (средний возраст $36,3 \pm 16,32$ лет), из них 12 женщин (40%) и 18 мужчин (60%). Длительность СД составила от 1 года до 50 лет (в среднем $18,4 \pm 12$ лет). Помимо диабетической нефропатии, у больных были выявлены следующие микрососудистые осложнения: поражение сетчатки было выявлено у всех пациентов: у 15 больных выявлена непролиферативная ретинопатия, у 6 больных - препролиферативная ретинопатия и у 9 больных - пролиферативная ретинопатия. Дистальная (периферическая) диабетическая полинейропатия была выявлена у 28 больных СД 1 типа, у 14 пациентов была выявлена автономная форма полинейропатии. Макрососудистые осложнения были представлены атеросклерозом коронарных сосудов (4 пациента), атеросклерозом нижних конечностей (1 пациент). Постинфарктный кардиосклероз был выявлен у одного пациента. Синдром Диабетической стопы был выявлен у 4 пациентов. Терапия гипогликемическая была проведена распространенными аналогами ультракороткого инсулина: Хумалог, Апидра, НовоРапид и длинного действия: Левемир, Лантус.

Больных СД 2 типа было включено 44 человека в возрасте от 39 до 78 лет (средний возраст $60,5 \pm 10,3$ лет), из них 25 женщин (56,9%), 19 мужчин (43,1%).

Длительность СД составила от 1 года до 34 лет (в среднем $11,5 \pm 7$ лет). Микрососудистые осложнения: поражение сетчатки было выявлено у 89% пациентов, у 21 больного - непролиферативная ретинопатия, у 15 больных - препролиферативная ретинопатия и у 4 больных пролиферативная ретинопатия. Дистальная (периферическая) диабетическая полинейропатия была выявлена у 36 больных СД 2 типа, у 4 пациентов была выявлена автономная форма полинейропатии. Диабетическая стопа была выявлена у 3 -ех больных. Так как у больных СД 2 типа АГ, дислипидемия, гиперурикемия, распространенный атеросклероз часто предшествовали дебюту СД, интерпретировать атеросклеротическое поражение сердца и сосудов нижних конечностей, ишемическая болезнь сердца (ИБС) и острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК) как осложнения только в рамках СД не представлялось возможным. Сердечно-сосудистые заболевания ССЗ (атеросклероз коронарных артерий, АГ, ИБС) были выявлены у 38 больных СД 2 типа. Постинфарктный кардиосклероз был выявлен у 5 больных, а ОНМК в анамнезе - у 4 больных СД 2 типа. Монотерапию метформином (Сиофор, Глюкофаж) получали 2 пациента СД 2 типа, комбинированная терапия метформином и ингибитором ДПП-4 лираглутидом проводилась у 23 пациентов, один больной находился на монотерапии аналогами инсулина ультракороткого и ультрадлинного действия, а 17 пациентов получали комбинированную терапию пероральными сахароснижающими препаратами (метформин, производные сульфонилмочевины, ингибиторы ДПП-4) и инсулинотерапию.

Сопутствующая патология была представлена патологией щитовидной железы (первичный гипотиреоз), инфекцией мочевыводящих путей (ИМП) в стадии ремиссии.

Критерием наличия артериальной гипертензии (АГ) было принято повышение артериального давления (АД) свыше 140/90 мм.рт.ст. или указание на наличие повышения АД в анамнезе и/или постоянный прием антигипертензивной

терапии, среднее динамическое артериальное давление было определено по формуле $(\text{АД ср.дин.} = ((\text{Систолическое АД} - \text{Диастолическое АД})/3 + \text{Диастолическое АД})$.

АГ была выявлена у 40 % больных СД 1 типа и у 88% больных СД 2 типа, у большинства больных СД 2 типа повышенное АД регистрировалась в дебюте заболевания, а иногда предшествовало развитию диабета. Коррекция АГ проводилась с помощью монотерапии ингибиторов АПФ, блокаторов рецепторов ангиотензина II (БРА II или была представлена комбинированной антигипертензивной терапией (блокаторы кальциевых каналов, селективные β 2-блокаторы, диуретики). Избыточная масса тела и ожирение выявлялось у больных СД 1 типа у 34% обследованных, тогда как у больных СД 2 типа у 77%. Коррекция дислипидемии проводилась статинами. С целью профилактики ССЗ больные получали антиагреганты. Метаболические и гемодинамические характеристики обследованных представлены в Таблице 2.

Таблица 2 - Метаболические и гемодинамические характеристики больных СД 1 и 2 типа, проводимая терапия

	СД 1 тип (n=30) (%)	СД 2 тип (n=)44 (%)
Избыточная масса тела	8 (28%)	15 (34%)
Ожирение	2 (6 %)	19 (43%)
АГ	12 (40%)	39(88%)
Дислипидемия	9 (30%)	42(95%)
Гиперурикемия	5 (16%)	10(22%)
Монотерапия иАПФ/БРАП	8 (26%)	16%(36%)
Комбинированная терапия АГ	6 (20%)	25 (55%)

Продолжение Таблицы 2

Терапия статинами	8 (28%)	39(88%)
Терапия тромбо- АСС	9 (30%)	42 (95%)

Контрольную группу составили 15 практически здоровых лиц, у которых ранее не выявлялись признаки нарушения углеводного обмена, поражения почек, АГ.

2.2 Обследование больных

У больных был тщательно собран анамнез болезни, проведен физикальный осмотр с определением объема талии (см), измерением гемодинамических показателей, индекса массы тела (ИМТ); «расчет ИМТ производился по формуле: отношение массы тела в килограммах к квадратному значению роста кг/м²» [118].

Лабораторные методы исследования.

Общеклинические: общий анализы крови и мочи.

Определение концентрации альбумина в первой утренней порции мочи иммунотурбодимитрическим методом с пересчетом на креатинин мочи на автоматическом анализаторе по стандартной методике [4].

В сыворотке крови, взятой натощак из кубитальной вены обследуемых, были определены по стандартной автоматизированной методике: уровень креатинина (мкмоль/л), калия (ммоль/л), липидного спектра (общего холестерина (ХС, ммоль/л), холестерина липопротеидов низкой плотности (ЛПНП, ммоль/л), триглицеридов (ТГ, ммоль/л), общего белка, мочевой кислоты, печеночных трансаминаз.

Уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) определялся методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Расчётная скорость клубочковой фильтрации (pСКФ). «Скорость клубочковой фильтрации рассчитывали по формуле СКД-ЕPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration): СКФ (мл/мин/1,73м²). Для мужчин: СКФ* = $141 \times \min(\text{креатинин сыворотки крови мг/дл}/0,9, 1) - 0,411 \times \max(\text{креатинин сыворотки крови мг/дл}/0,9, 1) - 1,209 \times 0,993 \text{Возраст}$. Для женщин: СКФ* = $144 \times \min(\text{креатинин сыворотки крови мг/дл}/0,7, 1) - 0,329 \times \max(\text{креатинин сыворотки крови мг/дл}/0,7, 1) - 1,209 \times 0,993 \text{Возраст}$ » [17].

Из инструментальных методов было выполнено УЗИ почек для оценки размеров почек, исключения аномалии развития почек, нефролитиаза.

Больные были осмотрены окулистом, невропатологом, кардиологом с целью диагностики микрососудистых и макрососудистых осложнений.

Помимо общеклинических методов обследования обследуемым были проведены специальные методы исследования.

2.3 Группы больных

Уровни исследованных мочевых биомаркеров сравнивали в группах больных СД, разделенных в зависимости от отсутствия и наличия признаков поражения почек, оцениваемых с помощью традиционных лабораторных показателей - уровню альбуминурии (соотношение альбумин/креатинин в разовой утренней порции мочи), протеинурии, pСКФ.

В I группу, СД без хронического поражения почек (СД без ХБП) вошло 37 пациентов, больные СД 1 типа (n=11) и больные СД 2 типа (n=26) с альбуминурией < 30 мг/г креатинина мочи (мг/г Cr мочи) и СКФ выше 60 мл/мин. Мужчины составили 49% (n=18), женщины 51 % (n=19). Средняя длительность СД в этой группе составила 12,0 ±10 лет. АГ была выявлена более чем у половины пациентов данной группы - 67,5% (n=25).

Длительность СД в первой группе была в среднем на 2 года меньше, чем во второй.

Во II группу СД с хроническим поражением почек (СД с ХБП) вошло 37 пациентов, больные СД 1 типа (n=19), СД 2 типа (n=18) с повышенной альбуминурией (30-300 мг/г Сг мочи) или ПУ и/или рСКФ менее 60 мл/мин. Мужчины составили 51 % (n=19), женщины 49 (n=18) %. Средняя длительность СД в этой группе была $15,7 \pm 9,07$ лет. АГ в этой группе встречалась чаще - у 75,6 % (n=28) больных.

Группы были сравнимы по уровню гликированного гемоглобина ($p=0,564$), ИМТ $\text{кг}/\text{м}^2$ ($p=0,419$), показателям липидного обмена и уровню систолического АД. Таблица 3, в соответствии с дизайном исследования группы различались по уровню АУ $\text{мг}/\text{г}/\text{Сг}$ мочи утренней порции мочи и уровню креатинина крови/ р.СКФ.

Таблица 3 - Клиническая характеристика обследованных пациентов с сахарным диабетом

Показатели	Группа I (n=37)	Группа II (n=37)	P_{I-II}
Возраст (лет)	52 ± 16	49 ± 16	$>0,05$
НвА1с (%)	8,2 [7,5;9,0]	8,00 [7,7;9,0]	$>0,05$
ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$)	28,1 [26,4;38,1]	27,6 [24,8;30,9]	$>0,05$
Мочевая кислота ($\text{мкмоль}/\text{л}$)	313,0 [250;402]	283,0 [245;394]	$>0,05$
ХС ($\text{ммоль}/\text{л}$)	5,0 [4,2;5,9]	4,93 [4,09;5,88]	$>0,05$
ЛПНП ($\text{ммоль}/\text{л}$)	3,2 [2,2;3,7]	3,10 [2,01;3,51]	$>0,05$
Сист. АД (мм рт.ст.)	130,0 [120,0;140,0]	130,0 [120,0;150,0]	$>0,05$
Длительность СД (лет)	$12,0 \pm 10,2$	$15,7 \pm 9,07$	$>0,05$
АУ ($\text{мг}/\text{г}$ Сг мочи)	9,00 [6,0;12,0]	55,0 [65,0;315,0]	$<0,05$
ПУ ($\text{г}/\text{л}$)	-	0,5 [0,3;1,0]	$<0,05$
СКФ ≥ 90 мл/мин (% б-ных)	72	54	
СКФ 89-60 мл/мин (% б-ных)	28	18	
СКФ < 60 мл/мин (% б-ных)	0	28	

В таблице представлена медиана, в скобках – интерквартильный размах [25; 75 %] Длительность СД представлена в виде $\text{mean} \pm \text{Std.dv}$, Нд- недостоверно, $p > 0,05$.

III группу (группа контроля) представили 15 здоровых добровольцев, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными больными: 6 мужчин (40%) и 9 женщин (60%) в возрасте от 18 до 73 лет (средний возраст $35 \pm 15,4$ лет).

2.4 Специальные методы исследования

Методом непрямого иммуноферментного анализа ИФА (ELISA) на базе клиники ревматологии, нефрологии и профпатологии имени Е.М. Тареева УКБ№3 Первого МГМУ имени И.М. Сеченова были определены в моче:

- маркеры подоцитарной дисфункции
 - структурно-функциональные белки нефрин, подоцин,
 - регулирующий состояние цитоскелета подоцитов цитокин миндин спондин-2;
- маркер «клеточного стресса»
 - защитный внутриклеточный белок теплового шока 27 (БТШ-27), экспрессия которого увеличивается в клетке в ответ на повреждение
- маркеры фиброангиогенеза
 - продуцируемый подоцитами ангиогенный, антиапоптотический фактор VEGF,
 - профиброгенный цитокин TGF- β 1,
 - компонент экстрацеллюлярного матрикса коллаген IV типа

Спектр изучаемых медиаторов, методы их определения в моче и используемые наборы реактивов [144], а также количество проведенных исследований данных медиаторов представлены в Таблице 4.

Таблица 4 – Изученные у пациентов с сахарным диабетом мочевые биомаркеры и методы их определения

Биомаркеры в моче	Метод определения, наборы реактивов для исследования	Количество
Подоцин	ИФА, «USCN» (США)	74
Нефрин	ИФА, «USCN» (США)	74
Миндин	ИФА, «USCN» (США)	74
БТШ-27	ИФА, «BCM Diagnostics» (США)	74
Коллаген IV типа	ИФА, «BCM Diagnostics» (США)	64
VEGF	ИФА, «BCM Diagnostics» (США)	64
TGF β -1	ИФА, «BCM Diagnostics» (США)	64

Разовая утренняя порция мочи обследуемых собиралась в контейнеры. Порция мочи (10 мл) центрифугировалась со скоростью 3000 об/мин в течение 15 минут [145], надосадочная часть разливалась в аликвоты и замораживалась при температуре -40°C . После завершения сбора материала пробы мочи размораживались и подвергались иммуноферментному анализу.

2.5 Методы статистической обработки

Статистический анализ данных проводили на персональном компьютере при помощи пакета программ «STATISTICA Basic», v10,0, StatSoft, США. Поскольку большинство исследуемых величин имели отличное от нормального распределение (которое рассчитывали согласно тесту Колмогорова-Смирнова) оценивали медиану, разброс величин по отношению к медиане характеризовали показателем интерквартильного размаха (25%, 75% перцентиль), куда входят 50% всех полученных показателей. При сравнении двух групп использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Достоверными считали различия при $p < 0,05$; при уровне $p > 0,05$, но $< 0,1$ говорили о наличии тенденции. Для выявления и оценки связей между исследуемыми показателями, применялся

непараметрический метод ранговой корреляции [144]. Силу (степень) и направление связи считали по величине и значению коэффициента регрессии r . Достоверными определяли корреляции с $p < 0,05$. Многофакторный анализ проводился методом бинарной логистической регрессии.

Для оценки предсказательной способности мочевых биомаркеров был использован ROC- анализ, программа MedCalc, Stat.Soft., Бельгия. Анализ эффективности модели проводилась в соответствии с экспертной шкалой для значений площади под кривой, AUC Таблица 5.

Таблица 5 - Экспертная шкала для оценки площади под ROC-кривой

Площадь под ROC-кривой	Качество теста
0,9-1,0	Отличное
0,8-0,9	Очень хорошее
0,7-0,8	Хорошее
0,6-0,7	Среднее
0,5-0,6	Неудовлетворительное

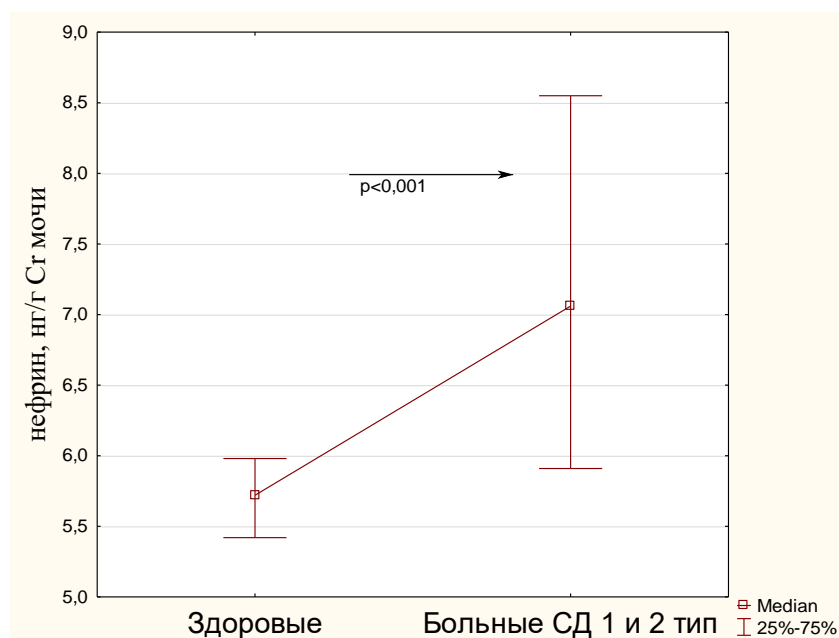
«Оптимальное значение концентрации (отбор оптимального предела cut-off) для каждого биомаркера устанавливали на основании максимального значения индекса Юдена – соотношение правдоподобия для положительных и отрицательных результатов» [146].

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Мочевые биомаркеры подоцитарного повреждения и клеточного стресса

3.1.1 Исследование нефрина в моче пациентов с сахарным диабетом

Средний уровень экскреции нефрина с мочой у больных СД достоверно превышал [5] таковой в группе контроля ($p=0,006$) Рисунок 5.



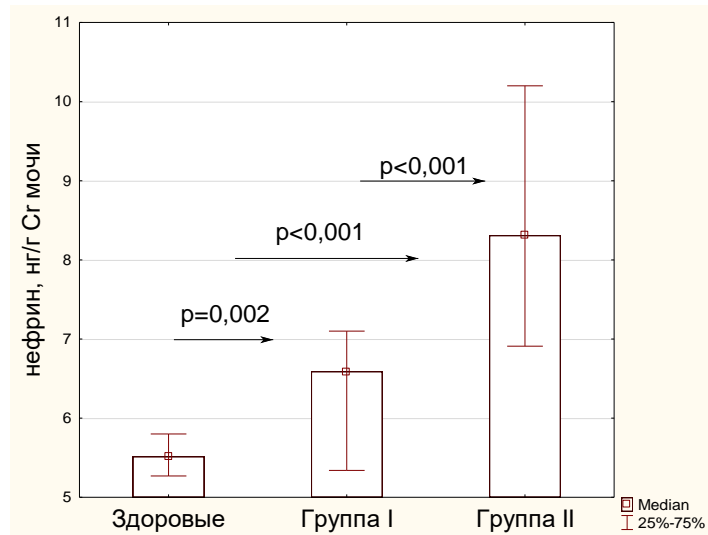
Сравнение средних с помощью критерия Манна-Уитни.

Рисунок 5 – Средний уровень нефрина в моче у пациентов с сахарным диабетом и в группе контроля

Нами не было получено достоверных различий среднего уровня нефрина в моче у больных с СД 1 и 2 типа, что указывает на схожесть механизмов повреждения подоцитов при диабете.

Средний уровень нефринурии (НУ) в группе контроля был достоверно ниже ($p=0,02$), чем у больных с АУ менее 30мг/г Сг мочи и нормальной СКФ (группа I),

а в группе больных СД с клинически явным поражением почек (группа II) НУ была в 1,5 раза выше, чем в группе I Рисунок 6.



Сравнение средних с помощью критерия Манна-Уитни.

Рисунок 6 – Экскреция нефрина с мочой у пациентов с сахарным диабетом с и без поражения почек в сравнении со здоровыми

У больных СД независимо от его типа нами были выявлены статистически достоверные корреляции уровня нефрина в моче с уровнем альбуминурии ($r=0,38$; $p<0,001$), протеинурии ($r=0,42$; $p<0,001$) Рисунок -7 и длительностью СД ($r=0,26$; $p=0,02$) Рисунок 8.

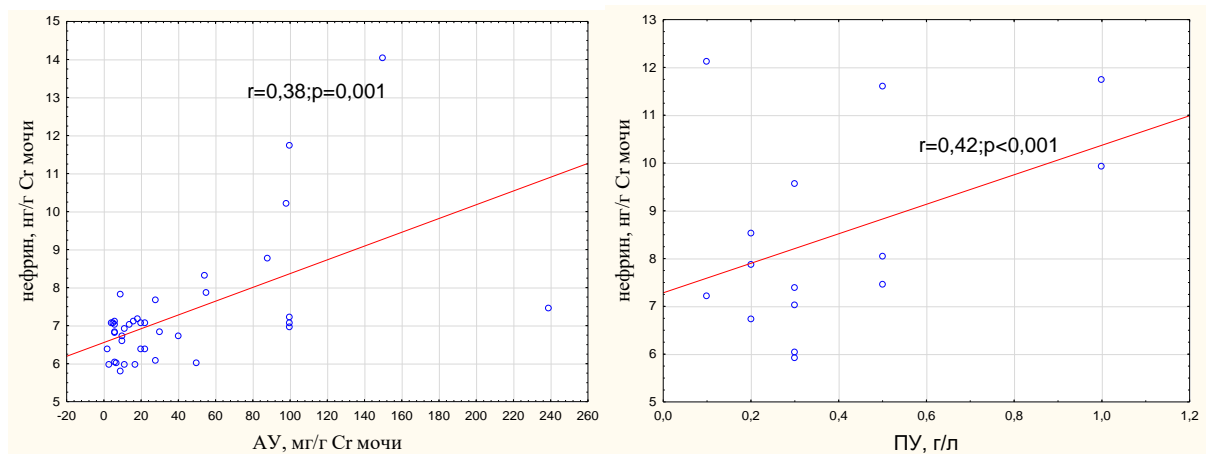


Рисунок 7 – Связь уровня нефрина в моче у пациентов с сахарным диабетом с альбуминурией и протеинурией

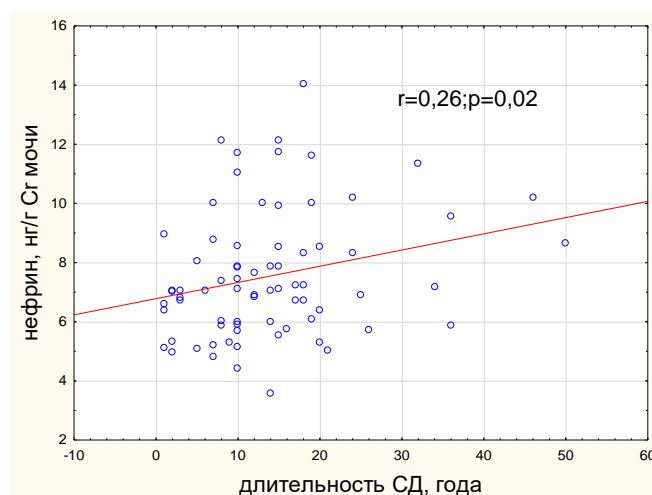


Рисунок 8 – Связь уровня нефрина в моче больных сахарным диабетом с длительностью сахарного диабета

У пациентов с длительностью СД менее 5 лет нами определена высоко достоверная прямая связь НУ с уровнем HbA1c% ($r=0,84; p<0,001$) Рисунок 9, что может указывать на роль гипергликемии в формировании подоцитарной дисфункции даже при непродолжительном течении СД и подчеркивает необходимость поддержания целевых показателей HbA1c% с самого начала заболевания.

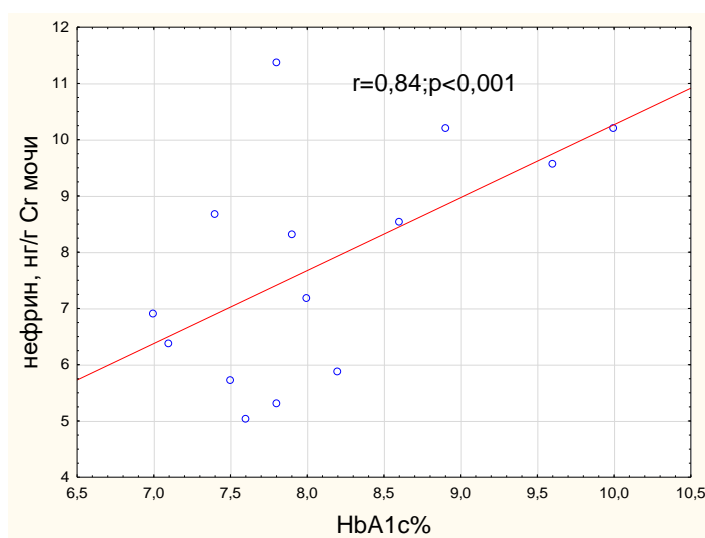


Рисунок 9 – Взаимосвязь между нефринурией и уровнем гликозилированного гемоглобина у пациентов с длительностью сахарного диабета менее 5 лет

Экскреция нефрина с мочой у больных СД 1 типа, при котором выявляется истинно диабетическое повреждение почек, прямо коррелировала с уровнем креатинина сыворотки крови ($r=0,48$; $p<0,001$) и обратно со СКФ ($r=-0,46$; $p=0,02$) Рисунок 10, что отражает роль подоцитарного повреждения не только в нарушении проницаемости гломерулярного фильтра, но и в формировании дисфункции почек путем вовлечения в механизмы гломерулосклероза [5].

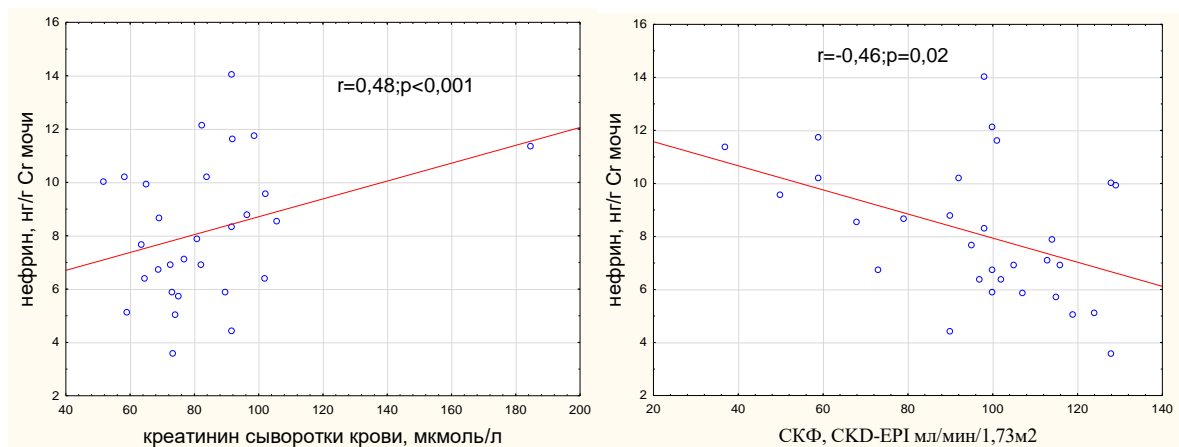


Рисунок 10 – Связь нефринурии с креатинином сыворотки крови и рСКФ у больных сахарным диабетом 1 типа

В пользу этого свидетельствует и выявленная нами прямая связь НУ с длительностью СД, которая имела наибольшую силу и достоверность в группе больных с рСКФ < 60 мл/мин/1,73 м², независимо от типа диабета ($r=0,73$; $p<0,05$).

На величину нефринурии оказывала влияние АД, особенно у пациентов СД 2 типа, у которых она часто предшествовала развитию диабетической болезни почек. У данной категории больных нами выявлена прямая достоверная связь систолического АД с экскрецией нефрина с мочой ($r=0,33$; $p<0,05$).

3.1.2 Исследование подоцина в моче пациентов с сахарным диабетом

У здоровых добровольцев средний уровень подоцина в моче был почти в два раза ниже, чем у больных СД $p < 0,001$ Рисунок 11.

Различий между средним уровнем подоцинурии (ПДУ) у больных СД 1 и 2 типа не было получено.

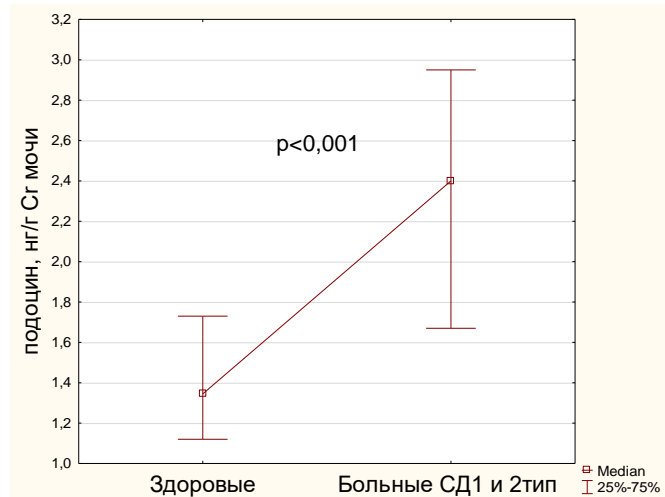


Рисунок 11 – Средний уровень подоцина в моче у больных сахарным диабетом и в группе контроля

Экскреция подоцина с мочой в группе пациентов с СД с клинически явным поражением почек (Группа II) была выше, чем у больных без поражения почек (Группа I) и в группе контроля Рисунок 12, что позволило рассматривать подоцин в качестве маркера почечного повреждения у больных СД.

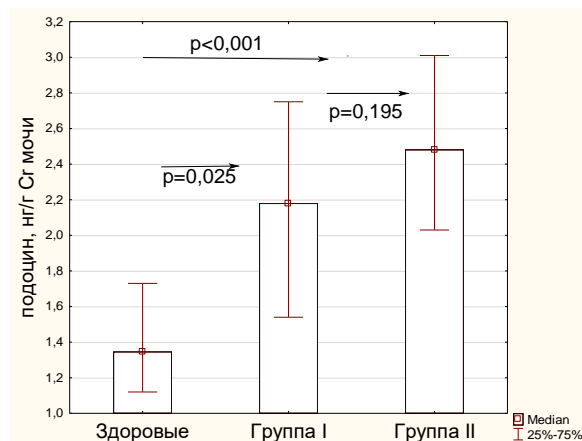


Рисунок 12 – Экскреция подоцина с мочой у больных сахарным диабетом в группах с и без поражения почек в сравнении со здоровыми

В общей группе больных СД нами была выявлена прямая корреляционная связь уровня подоцина в моче с АУ ($r=0,28;p=0,001$), и с уровнем ПУ ($r=0,35;p=0,001$). Наибольшая сила связи ПДУ с ПУ прослеживалась в группе больных с длительностью СД более 15 лет ($r=0,56;p=0,035$).

В группе больных СД 1 типа, как чистой модели диабетической нефропатии, нами выявлены прямая корреляционная связь ПДУ с уровнем креатинина сыворотки крови ($r=0,45;p=0,01$) и обратная связь со СКФ ($r=-0,39;p=0,03$). Наиболее сильные, статистически значимые корреляционные связи ПДУ с креатинином крови и рСКФ были при длительности диабета свыше 15 лет ($r=0,74;p=0,002$ и $r=-0,72;p=0,003$ соответственно) Рисунок 13, что также демонстрирует роль подоцитарного повреждения в развитии дисфункции почек.

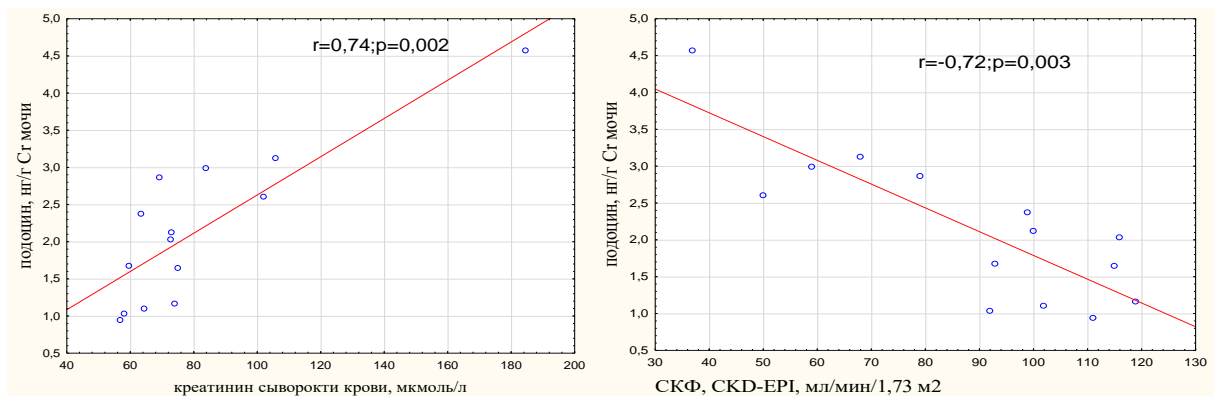


Рисунок 13 – Связь подоцинурии с креатинином крови и рСКФ у больных с длительным (более 15 лет) течением сахарного диабета

Уровень подоцина в моче больных независимо от типа СД коррелировал с уровнем HbA1c% ($r=0,31;p=0,004$), отражая повреждение подоцита под влиянием гликемии и ассоциированных с ней нарушений Рисунок 14.

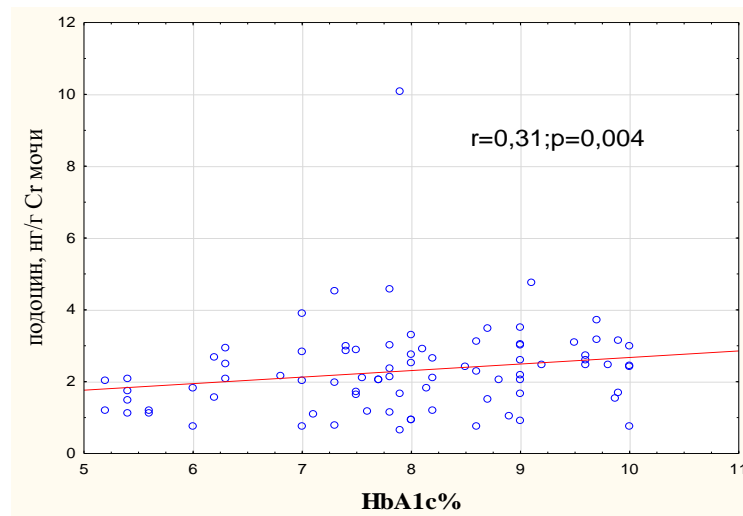


Рисунок 14 – Связь подоцинурии с уровнем HbA1c% у пациентов с сахарным диабетом

3.1.3 Исследование миндина в моче пациентов с сахарным диабетом

У больных СД мочевая экскреция миндина (спондина -2) – цитокина, не только вовлеченного в механизмы воспаления, но и регулирующего состояние цитоскелета подоцитов, достоверно ($p<0,001$) отличалась от таковой в контрольной группе Рисунок 15. У здоровых добровольцев миндин в моче выявлялся в следовых количествах. Различий между уровнем миндина в моче у больных СД 1 и 2 типа не было получено.

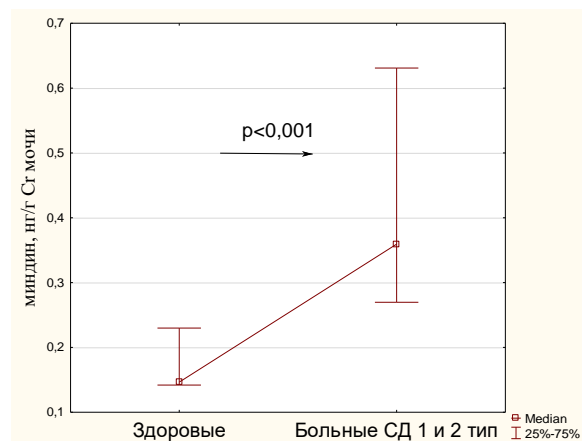


Рисунок 15 – Средний уровень миндина в моче больных сахарным диабетом и в группе контроля

Мочевая экскреция миндина у больных СД с клинически явным поражением почек была выше, чем у больных с нормальными значениями АУ и СКФ Рисунок 16.

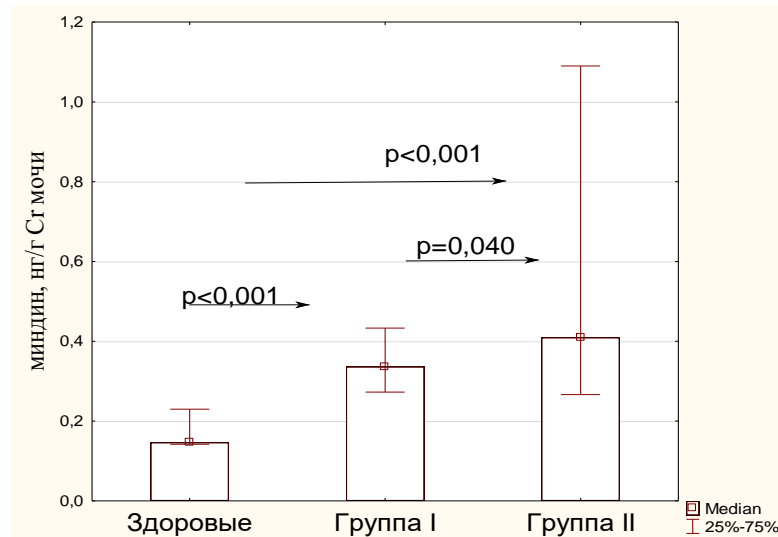


Рисунок 16 – Экскреция миндина с мочой у больных сахарным диабетом в группах с и без поражения почек в сравнении со здоровыми

Нами выявлена прямая достоверная связь миндинурии (МНУ) с уровнем HbA1c% ($r=0,3; p=0,005$), наиболее сильная связь прослеживалась в группе больных СД с длительностью менее 5 лет ($r=0,7; p=0,009$) рис, что также подтверждает необходимость тщательного контроля гликемии с поддержанием оптимальных показателей гликированного гемоглобина уже с момента установления диагноза.

По данным корреляционного анализа выявлена прямая связь экскреции миндина с мочой и АУ ($r=0,42; p=0,019$) независимо от типа СД. У пациентов с длительностью СД свыше 10 лет уровень МНУ коррелировал с ПУ ($r=0,6; p=0,002$).

У больных СД 1 типа уровень миндина в моче прямо коррелировал с показателем креатинина сыворотки крови ($r=0,42; p=0,019$), и обратно с уровнем СКФ ($r=-0,37; p=0,004$), что также может указывать на участие подоцита в формировании дисфункции почек. Статистически наиболее значимой была связь

МНУ со СКФ у больных СД с более длительным течением заболевания ($r=-0,58$; $p=0,029$) Рисунок 17

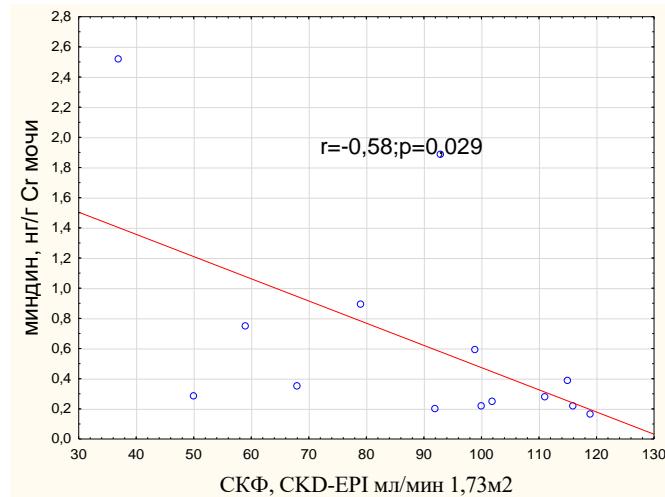


Рисунок 17 – Связь уровня миндина в моче с рСКФ у больных с длительным (более 15 лет) течением сахарного диабета

Нами выявлена прямая связь уровня миндина в моче с длительностью АГ ($r=0,26$; $p=0,02$), наибольшую силу эта связь имела в группе больных с длительным (15 лет) течением СД ($r=0,55$; $p=0,039$) Рисунок 18.

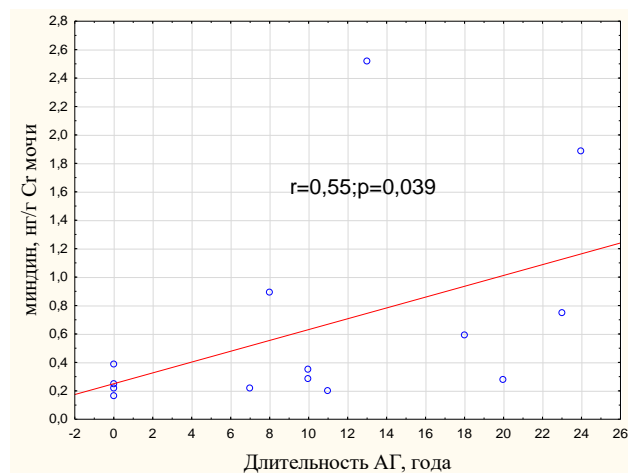


Рисунок 18 – Связь уровня миндина в моче с длительностью артериальной гипертонии у больных сахарным диабетом

В Таблице 6 представлен средний уровень мочевых биомаркеров подоцитарной дисфункции у больных СД 1 и 2 типа и у здоровых. Достоверность

различий между средними в подгруппах определен с помощью критерия Манна-Уитни. Уровни данных маркеров у больных СД 1 и 2 типа не отличались, подтверждая одинаковость механизмов повреждения подоцитов [147].

Таблица 6 – Уровень экскреции с мочой биомаркеров подоцитарной дисфункции у пациентов с сахарным диабетом 1 и 2 типа

Подгруппы обследованных	Мочевые биомаркеры нг/ед Сг мочи		
	Миндинурия	Нефринурия	Подоцинурия
СД 1 типа n=30	0,314 [0,214;0,385]	7,76 [6,32;10,08]	2,09 [1,65;2,88]
СД 2 типа n=44	0,420[0,281;0,754]	7,06 [5,83;7,87]	2,43[1,70;2,89]
Здоровые n=15	0,145 [0,131;0,229]	5,51 [5,20;5,80]	1,34[1,12;1,73]
p(СД1-здоровые)	p<0,001	p=0,003	p=0,028
p(СД2-здоровые)	p<0,001	p=0,018	p<0,001
p(СД1-СД2)	p=0,091	p=0,136	p=0,112

В таблице приведены значения медианы Me, в скобках интерквартильный размах [25;75]

Мы получили статистически значимое превышение экскреции с мочой миндина, нефрина и подоцина у пациентов I и II группы по сравнению со здоровыми, Таблица 7

Таблица 7 – Средний уровень мочевых биомаркеров подоцитарной дисфункции у больных сахарным диабетом с и без клинически явных признаков поражения почек и в группе контроля

Подгруппы обследованных	Мочевые биомаркеры, нг/ед Сг мочи		
	Миндинурия,	Нефринурия,	Подоцинурия,
Группа I n=37	0,336 [0,272;0,433]	6,59 [5,34;7,10]	2,18 [1,54;2,75]
Группа II n=37	0,409 [0,266;1,09]	8,31 [6,91;10,20]	2,48 [2,03;3,01]
Здоровые n=15	0,145 [0,131;0,229]	5,51 [5,20;5,80]	1,34 [1,12;1,73]
p(группа I-здоровые)	p<0,001	p=0,012	p=0,025
p(группа II-здоровые)	p<0,001	p<0,001	p<0,001
p(группа I-группа II)	p=0,040	p<0,001	p=0,195

В таблице приведены значения медианы Me, в скобках интерквартильный размах [25;75]

Маркеры подоцитарного повреждения и регулирующий состояние цитоскелета белок миндин в моче больных СД коррелировали между собой, Таблица 8.

Таблица 8 – Корреляции между мочевыми маркерами подоцитарного повреждения у пациентов с сахарным диабетом

Маркеры подоцитарной дисфункции		
Показатель	Миндинурия, нг/ед Сг мочи	Подоцинурия, нг/ед Сг мочи
Нефринурия, нг/мл/ед Сг мочи	r=0,48;p<0,001	r=0,58;p<0,001
Подоцинурия, нг/мл/ед Сг мочи	r=0,37;p<0,001	

3.1.4 Маркер клеточного повреждения БТШ-27 в моче пациентов сахарным диабетом

У больных СД экскреция защитного внутриклеточного белка-шаперона БТШ-27, появление которого в моче отражает развитие клеточного стресса и повреждения, была достоверно выше, чем у здоровых, и нарастала в группе с повышенной альбуминурией и ПУ Рисунок 19.

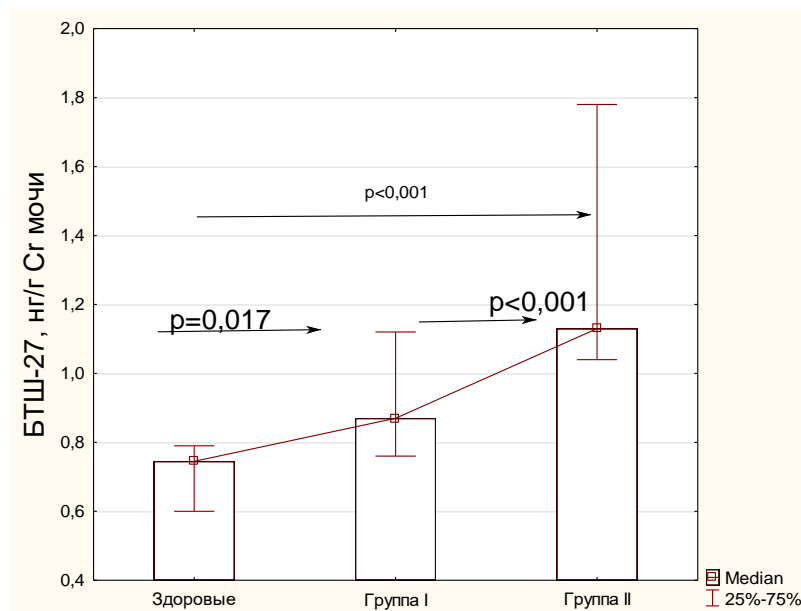


Рисунок 19 – Уровень БТШ-27 в моче больных сахарным диабетом с разной выраженностью альбуминурии/протеинурии и в контрольной группе

Выявлены прямые достоверные корреляции между мочевым показателем БТШ-27 и величиной АУ ($r=0,34$; $p=0,001$) и ПУ ($r=0,264$; $p=0,002$), наиболее сильная и достоверная связь с ПУ прослеживалась у больных СД с длительным (более 15 лет) течением заболевания ($r=0,69$; $p=0,038$).

Выявленная нами взаимосвязь между мочевым показателем БТШ-27 и нарушениями проницаемости гломерулярного фильтра у больных СД находит объяснение в свете современных представлений об участии данного белка в поддержании цитоскелета богатых актином почечных клеток, в частности, в

регулировании формы ножек подоцитов – одного из ключевых звеньев развития протеинурии [144]. На это также могут указывать установленные нами взаимосвязи между уровнем в моче БТШ-27 и показателями экскреции с мочой больных СД структурно-функциональных подоцитарных белков - нефрина ($r=0,45; p<0,001$) и подоцина ($r=0,24; p=0,034$).

Уровень БТШ-27 в моче прямо коррелировал с показателем креатинина сыворотки крови ($R=0,27; p=0,02$) Рисунок 20, наиболее явно эта взаимосвязь прослеживалась у больных СД, имеющих повышенную АУ и ПУ ($R=0,9; p=0,003$), косвенно отражая выраженность повреждения почечных структур, что позволяет использовать данный показатель для неинвазивной оценки локально-почечных процессов и мониторинга течения диабетической болезни почек.

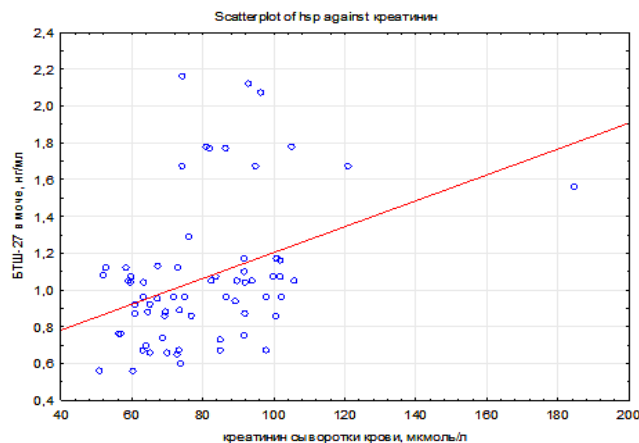


Рисунок 20 – Связь креатинина сыворотки крови с уровнем БТШ-27 в моче больных сахарным диабетом

Тесная взаимосвязь между уровнем в моче БТШ-27 и выраженностью почечной дисфункции (СКФ) ($r=-0,65; p=0,019$) прослеживалась в группе больных СД с тяжелым поражением других, помимо почек (ХБП С3), органов мишеней, в первую очередь, сердечно-сосудистой системы - ОНМК, ИМ ($r=0,63; p=0,034$).

На уровень БТШ-27 в моче, как маркера клеточного повреждения, влиял уровень гликированного HbA1c% ($r=0,24; p=0,037$) Рисунок 21, длительность

($r=0,29$; $p=0,02$) и выраженность АГ ($r=0,29$; $p=0,02$), что отражает многогранность механизмов повреждения почек при СД.

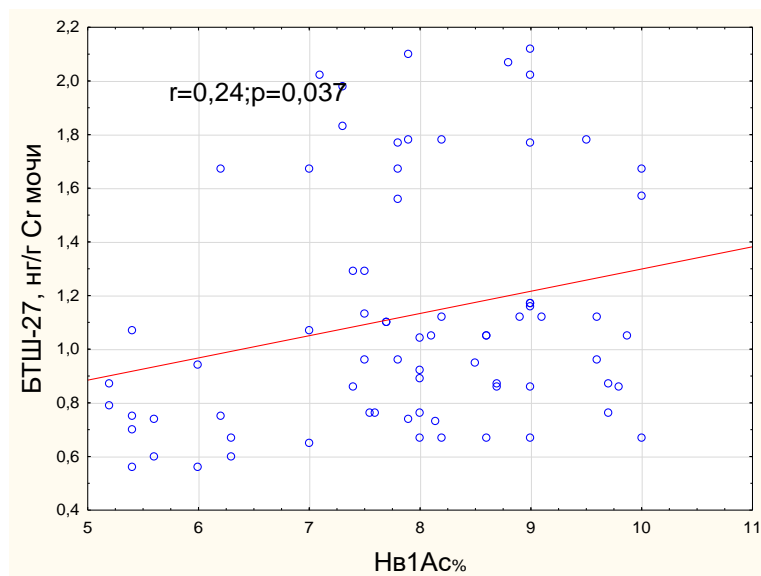


Рисунок 21 – Связь уровня БТШ-27 в моче с уровнем HbA1c у больных сахарным диабетом

Нами выявлена достоверная корреляционная связь уровня БТШ-27 в моче с длительностью АГ ($r=0,29$; $p=0,02$). У больных СД, страдавших АГ более 10 лет, прослеживалась связь уровня экскреции БТШ-27 с мочой с уровнем систолического АД ($r=0,76$; $p=0,016$) Рисунок 22.

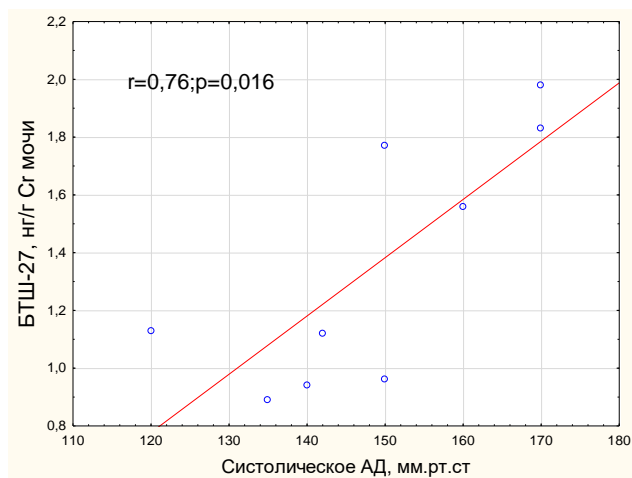


Рисунок 22 – Корреляция уровня БТШ-27 в моче и уровня систолического АД у больных СД с длительностью АГ свыше 10 лет

3.2 Маркеры фиброангиогенеза в моче пациентов с сахарным диабетом

3.2.1 Исследование коллагена IV типа в моче пациентов с сахарным диабетом

В нашем исследовании экскреция с мочой коллагена IV типа – компонента экстрацеллюлярного матрикса, продемонстрировавшего в эксперименте важную роль в развитии поражения почек при СД, была достоверно повышена у больных СД по сравнению со здоровыми добровольцами ($p < 0,001$) Рисунок 23.

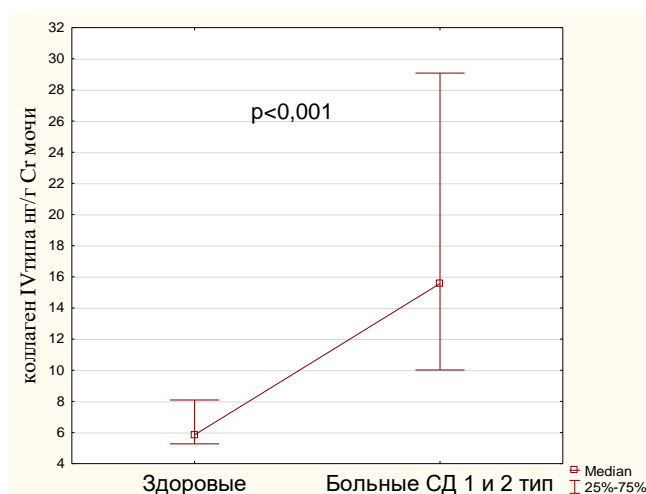


Рисунок 23 – Средний уровень коллагена IV типа в моче у больных сахарным диабетом и группы контроля

Мочевая экскреция коллагена IV типа у больных с нормальным уровнем АУ (менее 30 мг/г кр мочи) и СКФ более 60 мл/мин была в два раза ниже, чем у больных с АУ более 30 мг/г/кр мочи и СКФ ниже 60 мл/мин ($p < 0,001$) Рисунок 24.

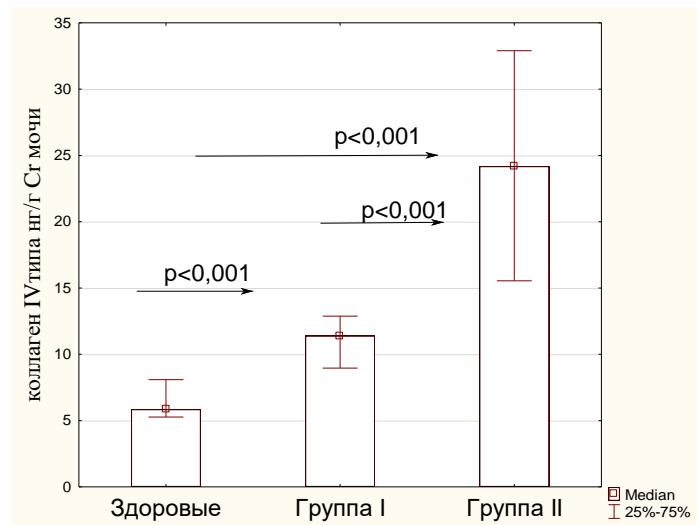


Рисунок 24 – Экскреция коллагена IV типа с мочой у больных сахарным диабетом в группах с и без поражения почек в сравнении со здоровыми

Аргументом в пользу активации механизмов фиброгенеза с накоплением в почке компонентов экстрацеллюлярного матрикса у больных с клинически явными проявлениями диабетической болезни почек может служить полученная нами у пациентов с СД, независимо от его типа, корреляция между уровнем коллагена в моче и выраженностью ПУ ($r=0,45; p<0,001$) Рисунок 25 наиболее сильная - у больных со СКФ менее 60 мл/мин /1,73 м² ($r=0,86 p=0,001$).

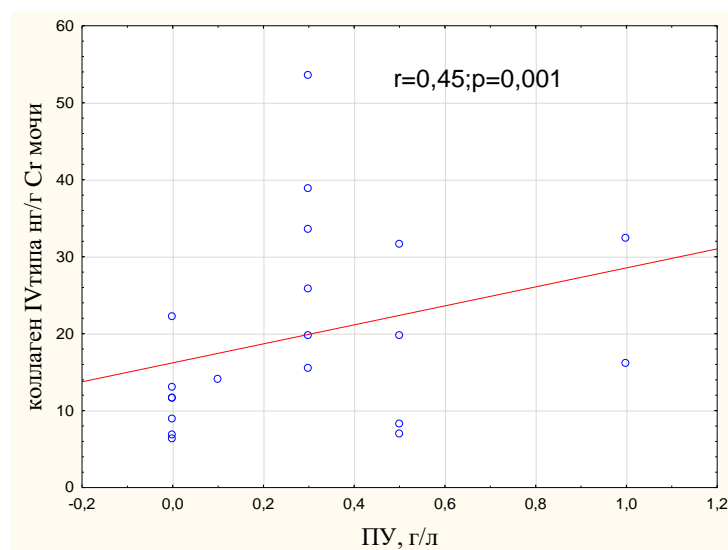


Рисунок 25 – Связь коллагенурии с протеинурией у больных сахарным диабетом

На это также указывают рост коллагенурии по мере прогрессирования дисфункции почек у больных СД Рисунок 26, а также прямая достоверная взаимосвязь мочевого показателя коллагена IV типа с креатинином сыворотки крови ($r=0,54;p=0,002$) и обратная - со СКФ($r=-0,37;p=0,047$).

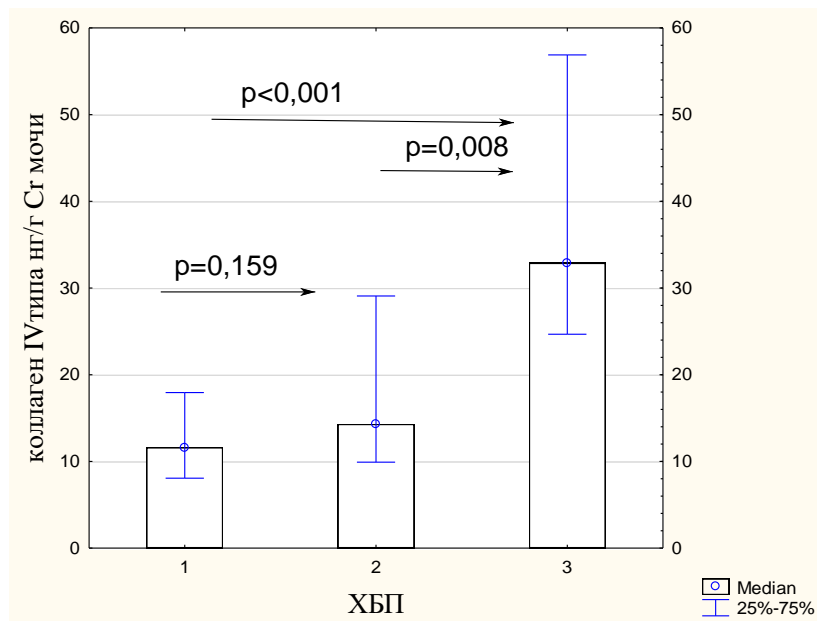


Рисунок 26 – Средний уровень коллагена IV типа в моче у пациентов сахарным в зависимости от стадии хронической болезни почек

В группе больных СД 1 и 2 типа в целом прослеживалась связь между уровнем в моче коллагена IV типа и HbA1c% ($r=0,36;p=0,001$) Рисунок 27, на показатель коллагенурии (КУ) также оказывала влияние длительность СД ($r=0,28p=0,002$).

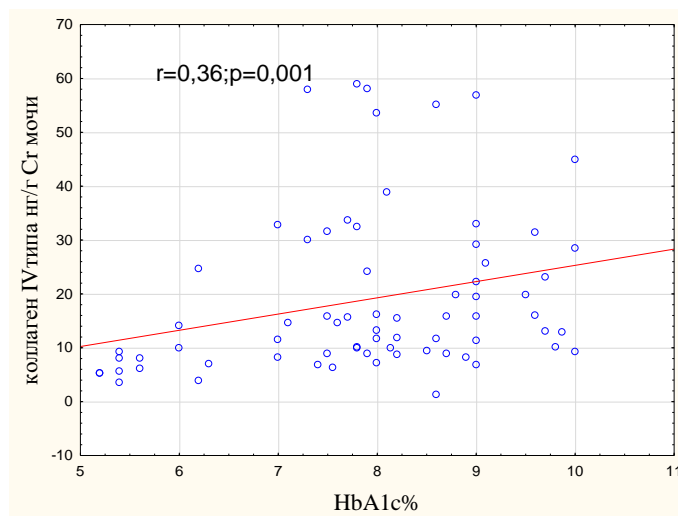


Рисунок 27 – Связь экскреции коллагена IVa с мочой с уровнем гликированного гемоглобина у больных сахарным диабетом

Длительность АГ также имела прямую статистически достоверную связь с уровнем коллагена IV в моче ($r=0,26; p=0,034$), наибольшая сила взаимосвязи закономерно отмечена нами в группе СД 2 типа ($r=0,34; p=0,048$), что вероятнее всего, связано с большей частотой встречаемости артериальной гипертензии у больных СД 2 типа.

3.2.2 Исследование TGF- β 1 в моче пациентов с сахарным диабетом

Оценка среднего уровня выделения в мочу профиброгенного цитокина TGF- β 1 у больных СД показала достоверное превышение такового у здоровых, и отсутствие различий при СД 1 и 2 типа Рисунок 28.

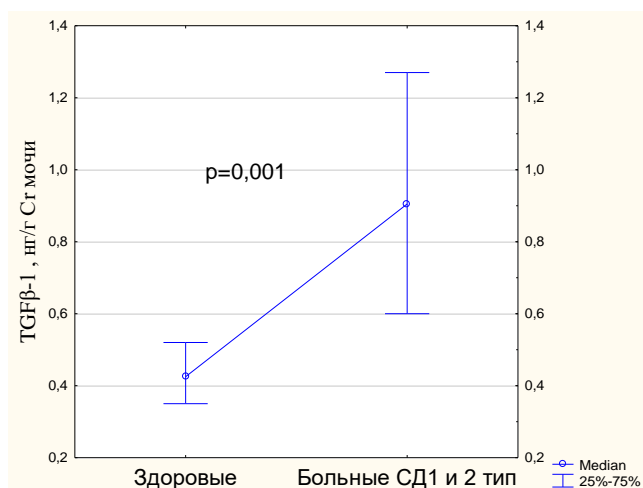


Рисунок 28 – Средний уровень коллагена IV типа в моче у больных сахарным диабетом и группы контроля

Нами выявлено нарастание уровня экскреции с мочой TGF- β 1 по мере усугубления проявлений поражения почек. В частности, средний уровень TGF- β 1 в моче пациентов с повышенной альбуминурией достоверно отличался от такового у пациентов с нормоальбуминурией, наиболее высоким он был у пациентов с ПУ Рисунок 29[3].

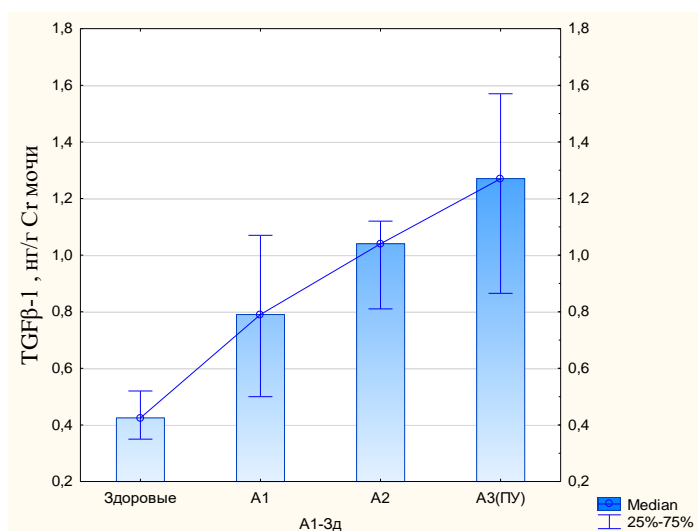


Рисунок 29 – Средний уровень TGF- β 1 в моче больных сахарным диабетом с альбуминурией и протеинурией

Кроме того, средний уровень TGF- β 1 в моче достоверно нарастал у пациентов с ХБП от 1 к 3 стадии Рисунок 30, а в общей группе больных СД нами выявлены прямые достоверные корреляции уровня TGF- β 1 в моче с величиной креатинина сыворотки крови ($r=0,37$; $p=0,003$), а также с показателем экскреции с мочой коллагена IV типа ($r=0,61$; $p<0,001$) Рисунок 31, что в целом можно расценивать как отражение активации локально-почечных механизмов фиброгенеза у больных СД.

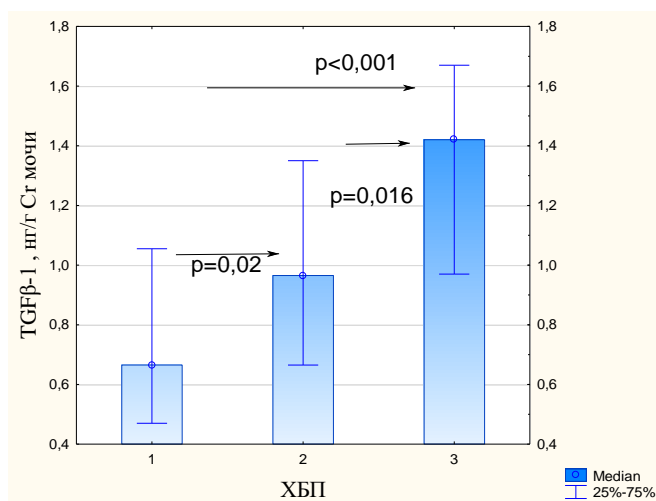


Рисунок 30 – Средний уровень TGF- β 1 в моче больных сахарным диабетом в зависимости от стадии хронической болезни почек

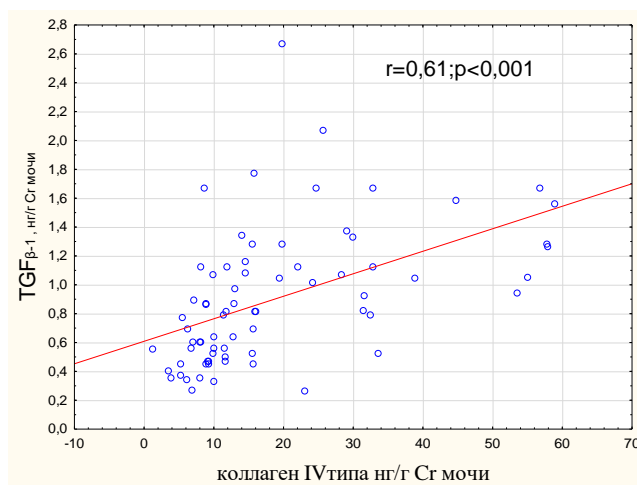


Рисунок 31 – Корреляции коллагенурии и экскреции TGF β -1 с мочой у больных сахарным диабетом

Нами выявлена прямая статистически значимая связь уровня HbA1c с уровнем TGF- β 1 в моче независимо от типа СД ($r = 0,24$; $p = 0,003$). С показателем экскреции TGF- β 1 у больных СД коррелировал также уровень систолического АД ($r=0,32$; $p=0,004$), что в целом указывает на многофакторность механизмов прогрессирования ХБП при СД.

3.2.3 Исследование VEGF в моче больных сахарным диабетом

По современным представлениям продуцируемый подоцитами ангиогенный, антиапоптотический фактор VEGF, обладает способностью поддерживать нормальную функцию структурного белка нефрина, благодаря чему является важным фактором «выживаемости» подоцитов и сохранения целостности гломерулярного барьера.

В нашем исследовании средний уровень VEGF в моче в общей группе больных СД был достоверно выше, по сравнению со здоровыми Рисунок 32.

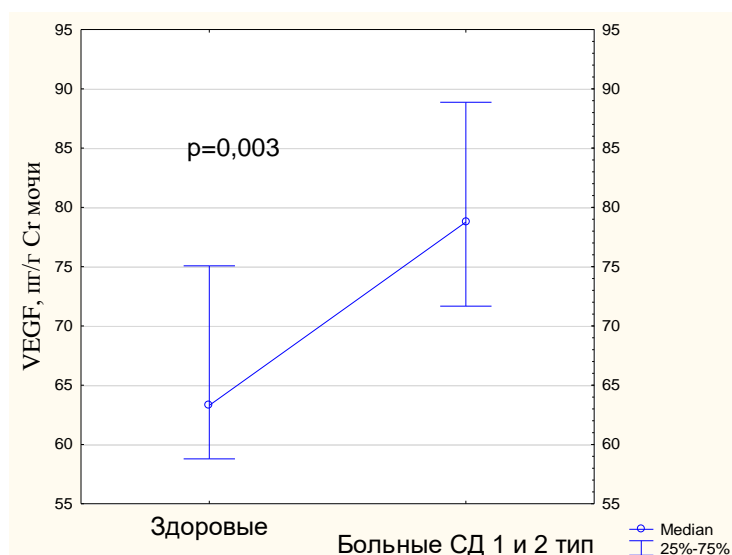


Рисунок 32 – Средний уровень VEGF в моче больных сахарным диабетом и в группе контроля

На уровень VEGF в моче независимо от типа СД оказывала влияние выраженность гликемии, о чем свидетельствует выявленная нами прямая корреляция между данным мочевым показателем и уровнем HbA1c% ($r=0,27$; $p=0,036$).

Уровень VEGF в моче достоверно повышался у больных СД еще с нормальной экскрецией альбумина и сохранной функцией почек (группа I), а у больных СД с клинически явным поражением почек (группа II) мы не выявили дальнейшего увеличения данного мочевого показателя и достоверной разницы между средним уровнем VEGF в моче по сравнению с больными СД без поражения почек Рисунок 33.

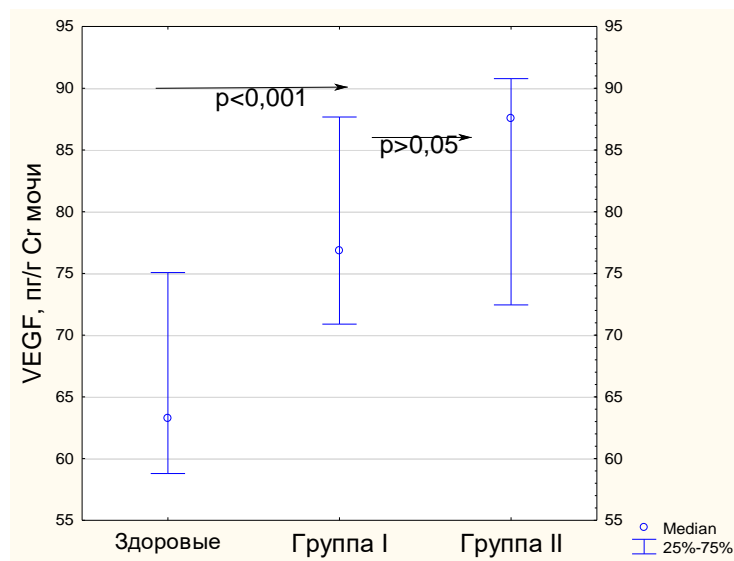


Рисунок 33 – Уровень VEGF в моче пациентов с сахарным диабетом в группах без и с поражением почек в сравнении со здоровыми

В связи с большим разбросом уровней VEGF в моче у больных СД с разными проявлениями поражения почек мы провели отдельный анализ данного мочевого показателя в подгруппах больных СД, имеющих повышенную АУ/ ПУ при сохранной функции почек, и у больных с наиболее выраженными проявлениями ХБП – с ПУ и СКФ ниже 60 мл/мин. Оказалось, что средний уровень экскреции VEGF с мочой у пациентов СД с повышенной АУ/ПУ при сохранной функции

почек был выше, чем у пациентов без клинических проявлений поражения почек и у здоровых, но при развитии почечной дисфункции этот показатель достоверно снижался, отражая недостаточность локально почечной продукции продукции VEGF у пациентов с развернутой картиной ХБП. Рисунок 34.

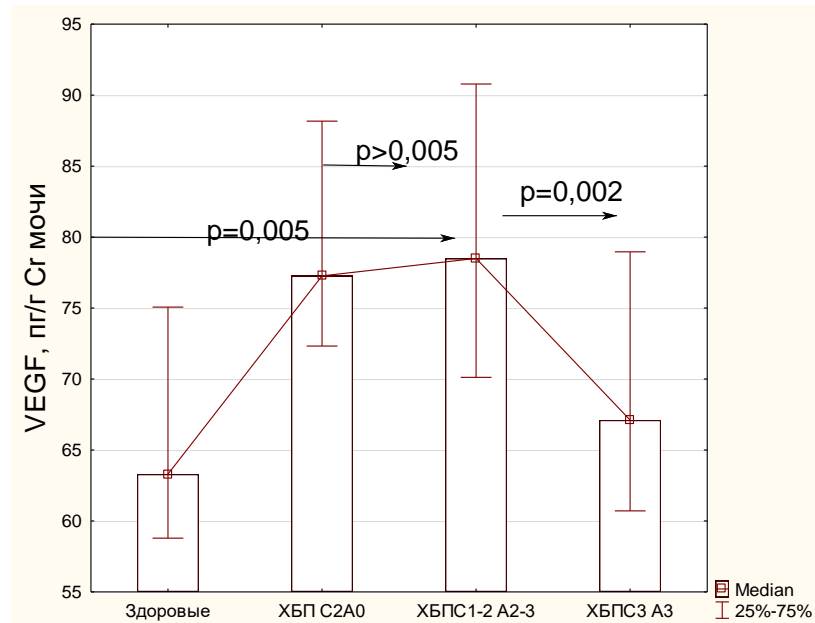


Рисунок 34 – Средний уровень VEGF в моче больных сахарным диабетом с разными проявлениями хронической болезни почек

Таким образом, уровень VEGF в моче увеличивался по мере нарастания АУ и развития ПУ. Однако при прогрессировании почечной недостаточности снижался. При этом экскреция нефрина с мочой, как было показано выше, оставалась высокой, что по нашему мнению может отражать тяжесть повреждения подоцитов, снижение их «выживаемости», косвенно указывая на потерю пула подоцитов в клубочках, лежащую в основе прогрессирования ХБП при СД Рисунок 35.

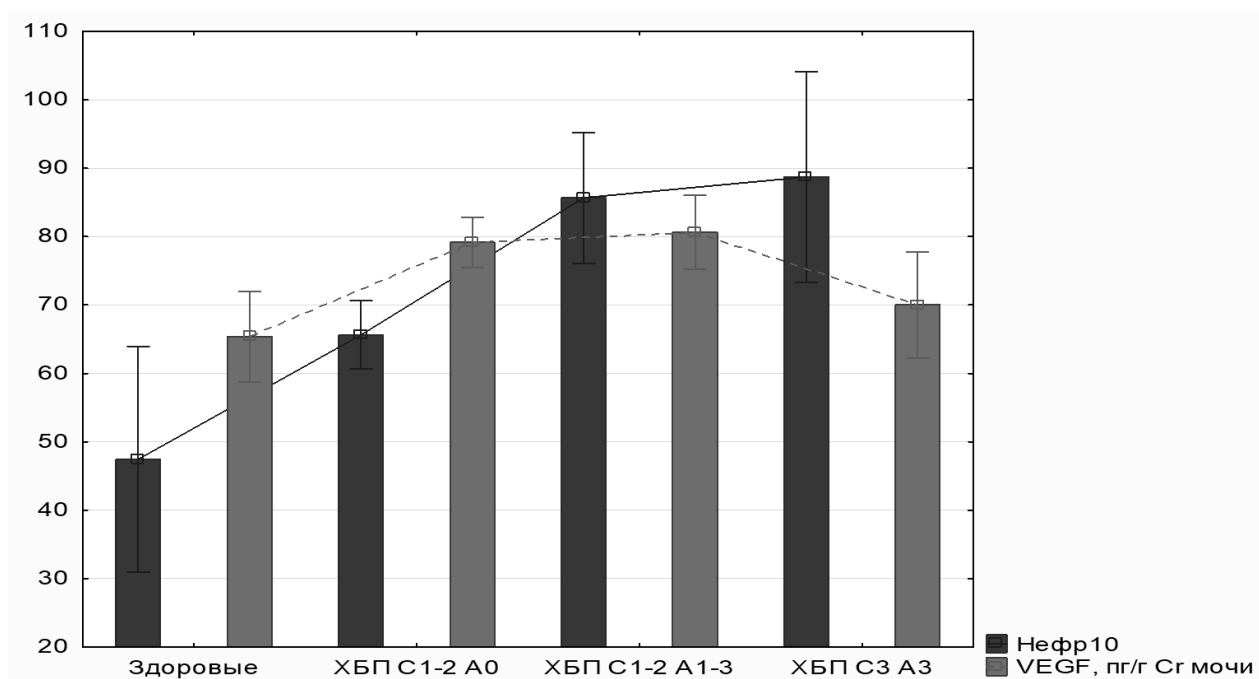


Рисунок 35 – Экскреция с мочой нефрина и VEGF у пациентов с сахарным диабетом на разных стадиях поражения почек

В Таблице 9 представлен средний уровень мочевых биомаркеров фиброангиогенеза у больных СД 1 и 2 типа и в группе контроля. Уровень экскреции коллагена IV типа и TGF β -1 в моче здоровых был достоверно ниже, чем у пациентов СД 1 и 2 типа. А экскреция данных маркеров не различалась у больных СД 1 и 2 типа [11].

Таблица 9 - Средний уровень мочевых биомаркеров фиброангиогенеза у больных сахарным диабетом 1 и 2 типа и в группе контроля

Подгруппы обследованных	Мочевые биомаркеры		
	Коллагенурия, нг/ед Ср мочи	VEGF в моче, пг/ед Ср мочи	TGF- β -1 в моче, нг/ед Ср мочи
СД 1 типа n=29	15,6 [10,0;31,5]	74,5 [70,09;80,12]	0,86 [0,6;1,12]
СД 2 типа n=35	15,5[10,1;25,7]	78,5 [69;88,7]	0,92[0,64;1,28]

Продолжение таблицы 9

Здоровые n=15	5,85 [5,27;8,09]	63,3 [58,79;75,07]	0,42[0,35;0,52]
p(СД1-здоровые)	p<0,001	p=0,016	p<0,001
p(СД2-здоровые)	p<0,001	p=0,003	p<0,001
p(СД1-СД2)	p=0,860	p=0,620	p=0,444

Средний уровень мочевых биомаркеров фиброангиогенеза у больных СД с и без клинически явных признаков поражения почек и в группе контроля демонстрирует Таблица 10. Где мы видим более значимое превышение мочевой экскреции коллагена IV типа и TGF- β -1 в моче, чем VEGF в моче над здоровыми.

Таблица 10 – Уровень экскреции с мочой биомаркеров фиброангиогенеза у пациентов с сахарным диабетом в подгруппах без и с ХБП

Подгруппы обследованных	Мочевые биомаркеры		
	Коллагенурия, нг/ ед Сг мочи	VEGF в моче, пг/ ед Сг мочи	TGF- β -1 в моче, нг/ед Сг мочи
Группа I n=27	11,39 [8,96;12,8]	76,87 [70,89;87,67]	0,69 [0,47;0,89]
Группа II n=37	24,1 [15,54;32,9]	72,67 [68,65;89,34]	1,07 [0,87;1,33]
Здоровые N=15	5,85 [5,27;8,09]	63,3 [58,79;75,07]	0,425[0,35;0,52]
p(группа I-здоровые)	p<0,001	p=0,003	p=0,003
p(группа II-здоровые)	p<0,001	p=0,011	p<0,001
p(группа I-группа II)	p<0,001	p=0,728	p=0,001

3.3 Взаимосвязь между исследуемыми маркерами подоцитарного повреждения, фиброангиогенеза и клеточного повреждения у больных сахарным диабетом

Нами выявлены достоверные связи мочевых биомаркеров подоцитарной дисфункции с маркерами фиброангиогенеза и клеточного стресса между собой в общей группе больных СД (Таблица 10 и Таблица 11), что, с одной стороны, подтверждает роль повреждения подоцитов в цепи патогенетических событий от нарушения проницаемости гломерулярного фильтра к гломеруло-, тубуло- и глобальному склерозу, с другой стороны, позволяет обсуждать возможность оценки с помощью мочевых тестов процессов, происходящих в ткани почки.

Таблица 11 – Корреляции между мочевыми биомаркерами подоцитарной дисфункции и фиброангиогенеза у больных сахарным диабетом

Маркеры подоцитарной дисфункции	Маркеры фиброангиогенеза		
	TGF- β	Коллаген IV типа	VEGF
НУ	$r=0,48;p<0,001$	$r=0,58;p<0,001$	$r=0,35;p=0,002$
МНУ	$r=0,37;p<0,001$	$r=0,60;p<0,001$	$r=0,45;p<0,001$
ПДУ	$r=0,34;p=0,003$	$r=0,48;p<0,001$	$P>0,05$

Таблица 12 – Корреляции между уровнем БТШ-27 в моче и мочевыми маркерами подоцитарной дисфункции и фиброангиогенеза

Маркеры	БТШ-27, нг/ед Cr мочи
НУ, нг/ед Cr мочи	$r=0,45;p<0,001$
МНУ, нг/ед Cr мочи	$r=0,38;p<0,001$

Продолжение Таблицы 12

ПДУ, нг/ед Сг мочи	r=0,24;p=0,034
TGF- β , нг/ед Сг мочи	r=0,34;p=0,003
Коллаген IV типа, нг/ед Сг мочи	r=0,63;p<0,001
VEGF, пг/ед Сг мочи	r=0,67;p<0,001

3.4 Оценка информативности исследуемых биомаркеров для диагностики поражения почек при сахарном диабете

С целью оценки прогностической значимости исследуемых мочевых биомаркеров для диагностики клинически явного поражения почек при диабете мы провели однофакторный и многофакторный логистический регрессионный анализ, результаты представлены в Таблице 13.

Таблица 13 – Результаты однофакторного регрессионного анализа исследуемых мочевых биомаркеров

Показатель	B	Значимость, p	Exp (B)	95% ДИ для Exp (B)
Нефринурия	0,920	<0,001	2,51	1,59-3,95
Коллагенурия	0,711	0,001	2,16	1,06-1,27
БТШ-27 в моче	2,72	0,001	15,27	2,9-79,20
Подоцинурия	0,386	0,112	1,47	0,91-2,36
Миндинурия	2,12	0,008	8,40	1,7-40,80
VEGF в моче	0,042	0,078	1,04	0,99-1,09
TGF- β в моче	2,09	0,005	8,11	1,85-35,30

При выборе наиболее значимых и репрезентативных маркеров для явного поражения почек при диабете мы учитывали не только величину коэффициента регрессии (B), достоверность (p), но и разброс показателей в 95 % доверительном интервале Таблица 13, что позволило нам выделить нефринурию и коллагенурию среди остальных показателей Рисунок 36.

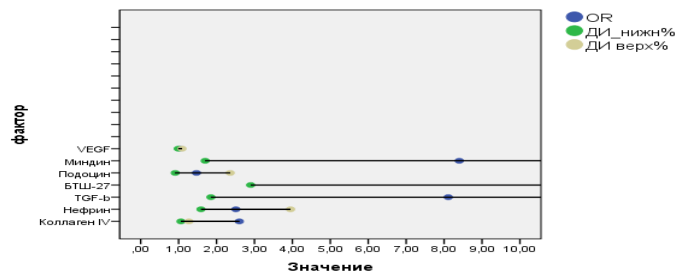


Рисунок 36 – Оценка информативности исследуемых мочевых биомаркеров на основании логистического регрессионного анализа

Мы оценили чувствительность и специфичность нефринурии и коллагенурии для клинически явного поражения почек при диабете на разных стадиях поражения почек Рисунок 37.

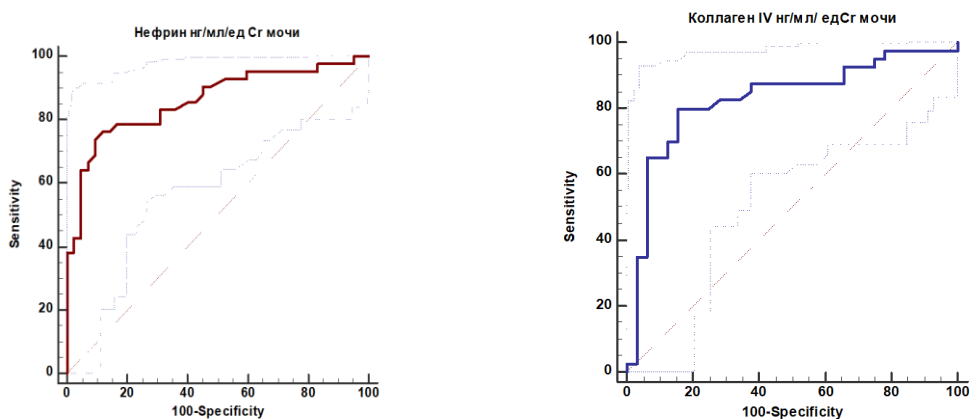


Рисунок 37- Чувствительность и специфичность показателей нефрина и коллагена в моче для клинически явного поражения почек

Для наиболее значимых маркеров мы провели определение оптимальных порогов концентрации нефрина, коллагена IV типа в моче, максимально чувствительной и специфичной для клинически явного поражения почек. «Оптимальное значение концентрации (отбор оптимального предела cut-off) для каждого биомаркера устанавливали на основании максимального значения индекса Юдена – соотношение правдоподобия для положительных и отрицательных результатов» [146; 148] Таблица 14. Для нефрина диагностическая концентрация составила 7,18 нг/ед Cr мочи, для коллагена IV типа 12,88 нг/ед Cr мочи.

Таблица 14 – Значения диагностически значимых концентраций (оптимальных порогов отсечения) исследуемых биомаркеров в моче у больных СД с клинически явным поражением почек

	Cut-off	Чувствительность,%	Специфичность,%	Индекс Юдена
нефринурия	>7,18	76,2%	88,1%	0,642
коллагенурия	>12,88	80,00	84,37	0,643

3.4.1 Значение мочевых биомаркеров для ранней диагностики поражения почек и оценки риска его прогрессирования

Наибольший интерес представляет ранняя (до появления повышенной АУ/ПУ и снижения СКФ) диагностика поражения почек при СД, что особенно актуально в отсутствии возможности проведения рутинной биопсии почки таким больным[11].

Мы использовали для неинвазивной диагностики раннего поражения почек у больных СД изученные нами мочевые биомаркеры, обладающие наибольшей информативностью. Оказалось, в группе больных с СД без признаков поражения почек, оцениваемых с помощью традиционных маркеров ХБП, диагностически

значимая НУ и КУ в среднем выявляются примерно у 20% пациентов: нефрина - у 22% (8/37), коллагена – у 16,6% (6/37)[149] Рисунок 38.

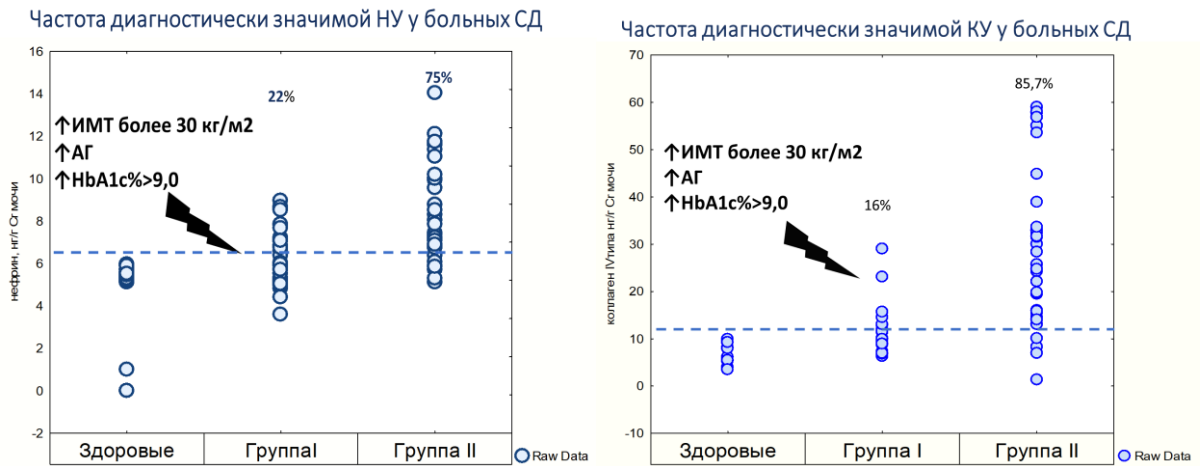


Рисунок 38 – Частота выявления диагностически значимого уровня нефрина и коллагена в моче пациентов с сахарным диабетом с традиционными признаками хронической болезни почек и без них

Среди больных с диагностически значимым уровнем нефрина и коллагена в моче при отсутствии клинически явного поражения почек оказались пациенты с неудовлетворительным контролем глюкозы крови (недостижение целевых показателей в течение трех лет), длительностью СД свыше 10 лет, и наличием таких традиционных факторов риска ХБП, как ожирение (ИМТ более 30 кг/м²), повышенный уровень систолического АД. По нашему мнению, эти данные находят объяснение в свете установленного в эксперименте повреждающего воздействие на подоцит не только гипергликемии и конечных продуктов гликозилирования, но и других ассоциированных с СД факторов - системной и внутриклубочковой гипертензии, оксидативного стресса, адипокинов и т.д.

Диагностически значимая нефринурия у больных СД без ХБП выявлялась даже при небольшой длительности заболевания, тогда как превышающая пороговый уровень коллагенурия выявлялась только при течении диабета более 10 лет Рисунок 39. На наш взгляд, эти данные отражают раннее вовлечение подоцитов

как ключевого звена развития АУ/ПУ при СД и активацию механизмов фиброгенеза при более длительном течении болезни.

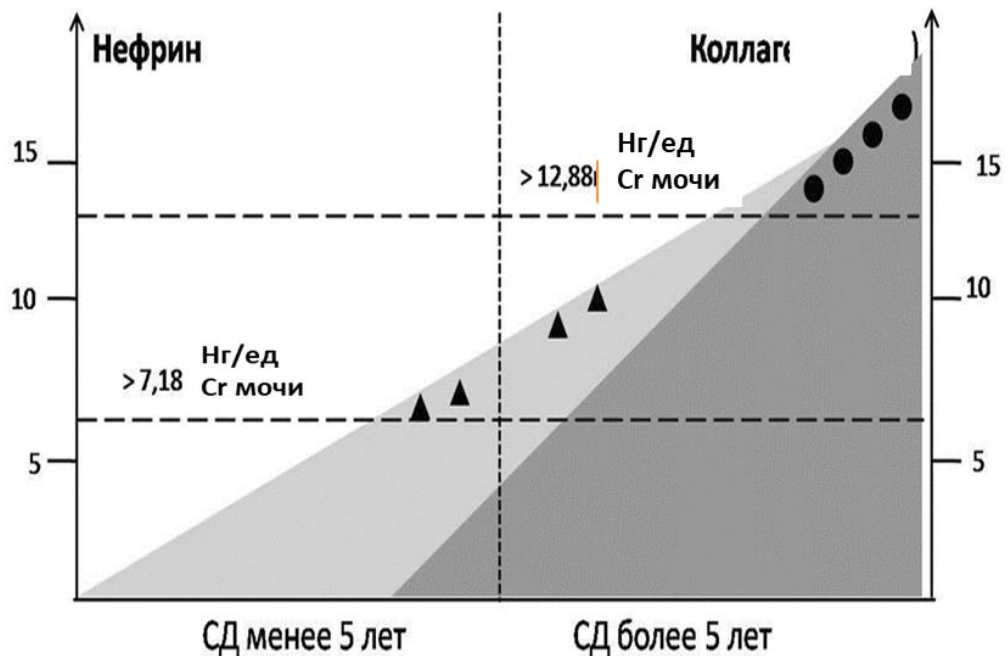


Рисунок 39 – Частота встречаемости положительной нефринурии и коллагенурии у больных без клинически явного поражения почек в зависимости от длительности сахарного диабета

Для оценки прогностического значения изученных мочевых тестов, у 20 случайно отобранных пациентов, участвовавших в нашем исследовании, мы отследили характер течения нефропатии в течение ближайших 3-х лет в зависимости от исходно выявляемого уровня нефрина и коллагена в моче.

Неблагоприятным прогнозом считали развитие у пациентов повышенной АУ или ПУ и /или переходом ХБП в следующую стадию. Благоприятным прогнозом считали стабильное течение ХБП или уменьшение АУ и ПУ.

Ожидается, что среди пациентов с исходно низкой НУ и КУ и стабильным течением ХБП были пациенты с компенсированным СД, прогрессирование ХБП отмечалось лишь у одного больного старшей возрастной группы и длительным течением СД, Таблица 15.

Таблица 15 – Анализ течения хронической болезни почек и клиническая характеристика обследованных пациентов с сахарным диабетом в зависимости от исходного уровня в моче нефрина и коллагена

Показатель в моче	Течение ХБП в ближайшие три года	
	Стабильное	Ухудшение
коллаген > 12,8 нг/ед Сг мочи нефрин > 7,18 нг/ед Сг мочи	n=4 Достижение целевых показателей HbA1c%, липидного обмена, АД	n=7 Исходно высокий ИМТ, недостижение целевых показателей HbA1c%, АД
коллаген < 12,8 нг/ед Сг мочи нефрин < 7,18 нг/ед Сг мочи	n=8 Достижение целевых показателей HbA1c, липидного обмена, АД	n=1 Длительность СД более 25 лет

Среди пациентов с высокой нефринурией и/или коллагенурией и последующей прогрессией ХБП оказались 6 мужчин и 1 женщина, исходно имевших и сохранявших в течение 3 лет высокий ИМТ, не достигших целевых показателей гликемии и не приверженных к лечению СД и АГ. В тоже время 4 больных с исходно высокими НУ и КУ, которым удалось достичь целевых показателей гликированного гемоглобина, АД и липидного спектра, демонстрировали в ближайшие 3 года стабильное течение ХБП.

Расчет отношения шансов показал, что риск развития в ближайшие 3 года повышенной АУ или ПУ и /или перехода ХБП в следующую стадию был в 14 раз выше у пациентов с исходно высокими НУ (более 7,18 нг/ед Сг мочи) и КУ (более 12,88 нг/ед Сг мочи), что является дополнительным аргументом в пользу современной стратегии ведения больных СД, основанной на многофакторном управлении болезнью, ранней интенсификации сахароснижающей терапии с предпочтительным назначением препаратов с дополнительными

нефропротективными эффектами целью снижения риска развития и прогрессирования ХБП Рисунок 40, Таблица 16.

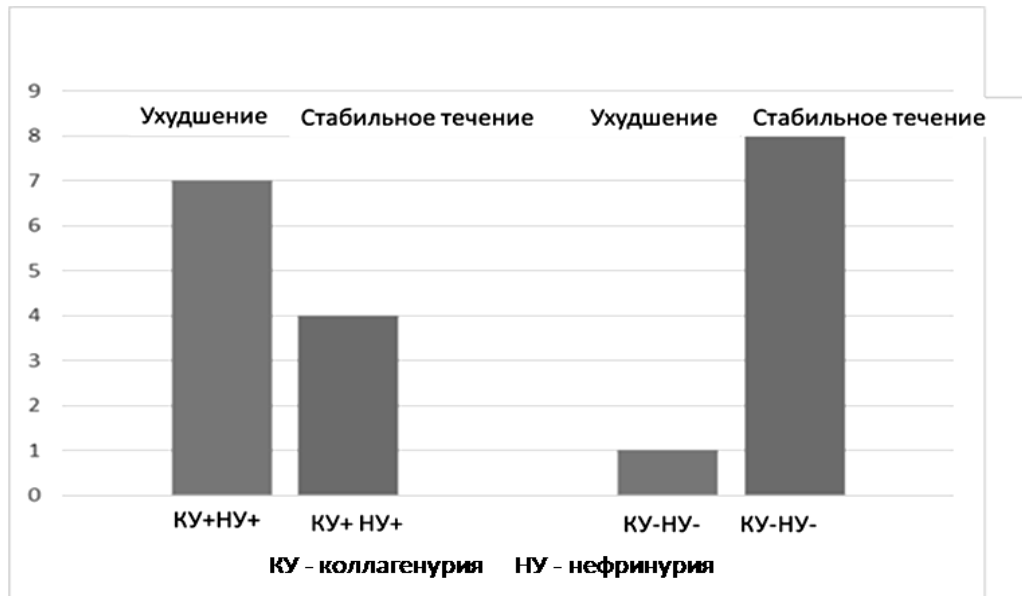


Рисунок 40 – Риск ускоренного развития поражения почек при диабете у пациентов с положительной нефринурией и коллагенурией

Таблица 16 - Отношение шансов ускоренного развития поражения почек при диабете у больных с положительной нефринурией и коллагенурией

Оценка риска			
ОШ	95% доверительный интервал		достоверность
	Н	В	р
14,0	1,252	156,610	0,0322

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Протеомика является инструментом, открывающим большие перспективы в оценке ДН. В настоящее время для оценки ранней ДН используют только альбуминурию, но многочисленные исследования показали, что множество биомаркеров экскретируется в мочу в период нормоальбуминурии, который предшествует микроальбуминурии. Обновление биомаркеров мочи, поиск «золотого стандарта» для диагностики ранних стадий ДН, полезно для диагностики этого заболевания с последующей профилактикой и терапией грозного осложнения. Мочевые биомаркеры легко выявляются, что позволяет проводить скрининг в популяции. Современные достижения молекулярной медицины и экспериментальной нефрологии позволили расширить представления о механизмах, приводящих к развитию альбуминурии и протеинурии. Все больше исследований показывают, что возникновение и развитие ДН тесно связано с повреждением подоцитов. Под воздействием основных патогенных факторов, связанных с диабетом (гипергликемия, внутриклубочковая гипертензия, оксидативный стресс и др.), подоциты подвергаются ряду морфологических изменений, таких как гипертрофия подоцитов, ЭМТ подоцитов и апоптоз подоцитов. [66,155]. Признаками подоцитопатии являются сглаживание ножек подоцитов с нарушением проницаемости щелевидной диафрагмы, гипертрофия, апоптоз, отслоение подоцитов от базальной мембраны клубочка со слущиванием их в мочевое пространство и появлением в моче как целых клеток (подоцитурия), так и структурных белков (нефринурия), уменьшение количества подоцитов в клубочке (подоцитопения). 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 20% пациентов с альбуминурией <30 мг/г и нормальной СКФ, а при развитии протеинурии высокие нефринурия и подоцинурия встречались чаще [4]. Самая высокая нефринурия определялась у пациентов с протеинурией, что отражало более выраженные изменения в подоцитах при клинически явной ДН. Полученные нами результаты согласуются с данными других исследований, свидетельствующими о вовлечении подоцитов в процессы инициации почечного повреждения при СД. В частности, А. Patari и соавт. в исследовании, проводившимся методом поперечного среза, выявили нефринурию методом иммуноблоттинга у 30% больных СД 1 типа с нормоальбуминурией, у 17% – с микроальбуминурией и у 28% – с протеинурией, тогда как в моче здоровых добровольцев нефрин не определялся [152]. В. Jim и соавт. обнаружили нефринурию у 54% больных с нормоальбуминурией и у всех больных СД 2 типа с протеинурией и микроальбуминурией. Как и в нашем исследовании, средняя экскреция нефрина с мочой у пациентов с микроальбуминурией и особенно протеинурией достоверно превышала таковую у пациентов с меньшей альбуминурией [157]. Патогенез развития и прогрессирования ДН сложен и многофакторен с участием многих путей и медиаторов. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система (РААС), образование конечных продуктов гликирования (КПГ), активация трансформирующего фактора роста- β 1 (TGF- β 1) и активные формы кислорода (АФК) являются важными путями развития и прогрессирования ДН. Каждый путь вызывает повреждение через несколько медиаторов или взаимодействует с другими путями. Пути и медиаторы во многом пересекаются; например, Ang-II вызывает повреждение из-за окислительного стресса, и, наоборот, окислительный стресс вызывает повреждение из-за РААС. Оксидаза никотинамидаденинфосфатдегидрогеназы (НАДФН) увеличивает TGF- β , и, наоборот, TGF- β увеличивает АФК за счет активации НАДФН-оксидазы. Вот почему точный патогенетический механизм и молекулярная заболеваемость ДН до сих пор полностью не изучены, а вклад каждого пути в индукцию ДН не определен.

Наибольшее повреждающее действие оказывают конечные продукты гликозилирования. Они образуются в организме больного СД в течение нескольких месяцев, после чего даже тщательная компенсация гликемии уже не способна полностью устранить присутствие этих веществ. Именно необратимостью конечных продуктов гликозилирования объясняют продолжающееся прогрессирование сосудистых осложнений даже при хорошей компенсации СД. Подоциты являются мишенью для конечных продуктов гликозилирования, о чем свидетельствует экспрессия ими соответствующих рецепторов. Так, *in vitro* было продемонстрировано снижение экспрессии нефрина подоцитами экспериментальных животных с СД и пациентов с СД под действием гликированного альбумина, эффект которого проявлялся при взаимодействии с рецепторами конечных продуктов гликозилирования [26]. Экспрессию рецепторов конечных продуктов гликозилирования в подоцитах активирует не только гипергликемия, но и ангиотензин II через AT2-рецепторы [26]. Эти сигнальные пути могут представлять дополнительный интерес как потенциальный объект воздействия препаратов, блокирующих РААС, с точки зрения уменьшения токсических эффектов конечных продуктов гликозилирования.

В нашем исследовании у пациентов с СД 1 и СД 2 типа с длительностью заболевания не более 5 лет определялась сильная и высоко достоверная взаимосвязь нефринурии и миндинурии 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 гипертония, что было продемонстрировано при ДН и гипертоническом нефроангиосклерозе [27-30]. Установлено, что длительное воздействие мощного гидравлического пресса приводит к механическому растяжению подоцитов, нарушению синтеза адгезивных белков, снижению

экспрессии ряда структурных подоцитарных белков [31]. Введение ангиотензина II крысам помимо развития артериальной гипертонии сопровождалось апоптозом подоцитов и уменьшением экспрессии нефрина [32]. 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 ангиотензина II подоцитами через активацию экспрессии ангиотензиногена. Под действием повреждающих факторов подоциты экспрессируют AT1- и AT2-рецепторы, приобретая, таким образом, способность отвечать на действие циркулирующего ангиотензина II. Помимо гипергликемии и механического растяжения продукцию ангиотензина II в подоцитах активируют трансформирующий фактор роста $\beta 1$, реактивные кислородные радикалы, компоненты белков, выделяющихся с мочой [33,34].

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

Экспериментальными исследованиями последних лет убедительно доказано, что повреждение подоцитов играет важную роль не только в нарушении проницаемости фильтрационного барьера и развитии протеинурии, но и в формировании гломерулосклероза и нарушении функции почек [15]. При интенсивном или продолжительном воздействии повреждающих факторов происходит значительное слущивание подоцитов в мочевое пространство, что при ограниченной пролиферативной способности этих клеток приводит к подоцитопении. На месте потери подоцита базальная мембрана клубочков оголяется и срастается с капсулой Шумлянского-Боумана, 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 [15,34,35].

На важную роль подоцитарной дисфункции в механизмах прогрессирования ДН косвенно указывают и результаты нашего исследования. Так, у пациентов с СД с разной выраженностью альбуминурии/протеинурии экскреция с мочой нефрина прямо коррелировала с уровнем креатинина сыворотки крови и обратно – с СКФ, а также с уровнем экскреции в мочу коллагена IV типа и TGF- β 1, что отражает причинно-следственную взаимосвязь пролонгированного повреждения подоцитов при длительном течении СД с развитием дисфункции почек.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные скрининговые тесты позволяют выявить ДН только на стадии клинически значимой альбуминурии, хотя начальные структурные и функциональные нарушения в почках развиваются задолго до повышения экскреции с мочой альбумина. В нашем исследовании было показано, что у 20% больных СД определяется достоверное увеличение уровня в моче маркеров повреждения подоцитов (нефрина, подоцина), предшествующее развитию клинически значимой альбуминурии и протеинурии. С учетом результатов предыдущих экспериментальных исследований полученные данные подтверждают возможность использования данных мочевых тестов для ранней диагностики гломерулярного повреждения при СД. Тесные корреляции уровней биомаркеров подоцитарной дисфункции (в большей степени нефринурии) в моче с клиническими проявлениями поражения почек (выраженностью альбуминурии/протеинурии, артериальной гипертонией, почечной дисфункцией), а также с уровнем гликозилированного гемоглобина крови указывают на перспективы применения изученных мочевых тестов для неинвазивного мониторинга развивающихся при СД гломерулярных изменений и оценки риска их прогрессирования. Необходимы дальнейшие более крупные исследования с целью определения диагностических концентраций нефрина и подоцина и оценки чувствительности и специфичности данных мочевых тестов в качестве ранних маркеров поражения почек при СД.

ВЫВОДЫ

1. У больных СД, независимо от его типа, выявляется повышенная экскреция с мочой комплекса биомаркёров, отражающих повреждение подоцитов (нефрина, подоцина, миндина, белка теплового шока 27). Выраженность этих изменений прямо взаимосвязана с уровнем гликемии (HbA1c%), длительностью сахарного диабета, тяжестью и длительностью артериальной гипертензии. У больных СД с поражением почек уровни в моче маркеров подоцитарного повреждения выше, чем у пациентов без ХБП и коррелируют с выраженностью альбуминурии/протеинурии и дисфункции почек.

2. Наряду с изменением функции подоцитов у больных СД отмечается активация механизмов фиброангиогенеза в почке, характеризующаяся повышенной экскрецией с мочой TGF- β 1, коллагена IV типа и VEGF. Уровень TGF- β 1 и коллагена IV типа в моче больных СД увеличивается по мере роста выраженности АУ/ПУ и сывороточного креатинина, тогда как экскреция с мочой антиапоптотического VEGF снижается по мере ухудшения функции почек, что наряду с высокой персистирующей нефринурией свидетельствует о прогрессирующем подоцитарном повреждении.

3. Из спектра изученных мочевых биомаркеров наиболее информативными для выявления поражения почек являются нефрин (специфичность – 88,1%, чувствительность – 76,2%, AUC=0,642) и коллаген IV типа (специфичность 84,37 %, чувствительность – 89%, AUC=0,643). Пороговыми диагностическими значениями (отражающими достоверное поражение почек) являются уровни в моче нефрина - выше 7,18 нг/ед Cr мочи, коллагена IV типа - выше 12,88 нг/ед Cr мочи.

4. У больных СД в отсутствии традиционных признаков ХБП диагностически значимые концентрации нефрина выявляются в 22% случаев, а коллагена - в 16,6%, причем высокая нефринурия - даже при небольшой длительности заболевания, тогда как повышенная коллагенурия, как правило, при длительном течении диабета. К группе риска раннего поражения почек при СД относятся больные с

неудовлетворительным контролем гликемии, ожирением, артериальной гипертензией.

5. У пациентов с персистирующим высоким уровнем в моче нефрина (более 7,18 нг/ед Cr мочи) в комбинации с коллагеном (более 12,88 нг/ед Cr мочи) риск неблагоприятного исхода ХБП в ближайшие 3 года (нарастание альбуминурии/протеинурии и/или перехода ХБП в следующую стадию) в 14 раз выше, чем у пациентов с низкими показателями нефрина и коллагена в моче, что указывает на необходимость интенсификации лечения СД и строгой модификации факторов риска ХБП в этой группе пациентов

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Всем больным с СД 1 и 2 типа для раннего выявления поражения почек помимо оценки традиционных маркеров ХБП рекомендовано с момента установления диагноза определение уровня экскреции с мочой нефрина и коллагена IV типа, целесообразен их ежегодный контроль для оценки риска прогрессирующего течения ХБП. Проведение данных тестов особенно показано пациентам с неудовлетворительным контролем гликемии и артериальной гипертензии, ожирением.

2. Выявление у пациентов с СД без традиционных признаков ХБП нефринурии более 7,18 нг/ед Сг мочи или коллагенурии более 12,88 нг/ед Сг мочи указывает на формирующееся поражение почек, характеризующееся нарушением функции подоцитов и активацией в почке механизмов фиброгенеза. Выявление данного уровня мочевых биомаркеров диктует необходимость более строго контроля гликемии, выявления и устранения дополнительных факторов риска ХБП.

3. Персистирование у больных СД неблагоприятного спектра мочевых биомаркеров (нефринурии более 7,18 нг/ед Сг мочи в сочетании с коллагенурией более 12,88 нг/ед Сг мочи) является прогностически неблагоприятным признаком, указывающим на высокий риск развития в ближайшие три года повышенной альбуминурии/стойкой протеинурии и/или перехода ХБП в следующую стадию. Пациентам группы риска показана ранняя интенсификация сахароснижающей и нефропротективной терапии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГ - артериальная гипертензия

АТ-II - ангиотензин II

АТ I- рецептор ангиотензина I

АУ - альбуминурия

АМФ протеинкиназа – 5'аденозинмонофосфат-активированная протеинкиназа

АФК - активные формы кислорода

БМК – базальная мембрана клубочка

БРА II - блокатор рецепторов ангиотензина II

БТШ-27 - белок теплового шока-27

ДАД- диастолическое артериальное давление

ДН - диабетическая нефропатия

ДПП-4 - дипептидилпептидаза-4

ИАПФ - ингибитор ангиотензин-превращающего фермента

ИБС - ишемическая болезнь сердца

ИМТ - индекс массы тела

ИФА - иммуноферментный анализ

КБ - капсула Боумена-Шумлянского

КПГ - конечные продукты гликирования СД - сахарный диабет

КУ - коллагенурия

Микро-РНК- малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты

ЛПНП - холестерин липопротеидов низкой плотности

МНУ - миндинурия

НАД⁺ - никотинамид-аденин-динуклеотид

НАДН - это восстановленная форма никотинамид-аденин- динуклеотида

НАДФН - никотинамид-аденин- динуклеотид фосфат дегидрогеназа

НОНР - научное общество нефрологов России

НУ - нефринурия

ОНМК - острое нарушение мозгового кровообращения

ПДУ - подоцинурия

ПУ – протеинурия

РААС - ренин-ангиотензин-альдостероновая система

рСКФ- расчетная СКФ

САД – систолическое артериальное давление

СД – сахарный диабет

СКФ - скорость клубочковой (гломерулярной) фильтрации

СРО- свободнорадикальное окисление

ССЗ - сердечно-сосудистые заболевания

ТГ- триглицериды

ТПН - терминальная почечная недостаточность

УКБ- университетская клиническая больница

ХБП - хроническая болезнь почек

ХПН - хроническая почечная недостаточность

ХС - общий холестерин

ЩД - щелевая диафрагма

ЭМТ - эпителиально-мезенхимальная трансдифференцировка

СКД-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration)-

эпидемиологическая формула для расчета скорости клубочковой фильтрации

ERA-EDTA - Европейская ассоциация нефрологов и Европейская ассоциация диализа и трансплантации

GLUT1- (Glucose transporter 1) - односторонний белок-переносчик глюкозы

HbA1c – гликированный гемоглобин

HIF-1 α - индуцируемый гипоксией фактор-1 α

NF κ B - ядерный фактор транскрипции

НУНА- национальная классификация Нью-Йоркской ассоциации кардиологов

mTOR (mechanistic target of rapamycin kinase) механическая цель рапамицина

PPAR - пролифератор пероксисом

TGF- β 1 - трансформирующий фактор роста β 1

TSR - тромбоспондин типа 1

VEGF - сосудистый эндотелиальный фактор роста

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cho, N. IDF Diabetes Atlas, tenth edition / N. Cho, J. Kirigia, K. Ogurustova, A. Reja. – 2017.
2. Shankland, S.J. The podocyte's response to injury: Role in proteinuria and glomerulosclerosis / S.J. Shankland // *Kidney International*. – 2006. – Vol. 69. – № 12. – P. 2131-2147. DOI: 10.1038/sj.ki.5000410.
3. Экскреция с мочой маркеров повреждения подоцитов у больных сахарным диабетом / А.А. Щукина, И.Н. Бобкова, М.В. Шестакова [и др.] // *Терапевтический архив*. – 2015. – Т. 87. – № 10. – С. 62-66.
4. Бобкова, И.Н. Оценка уровней нефрина и подоцина в моче у больных с сахарным диабетом / И.Н. Бобкова, А.А. Щукина, М.В. Шестакова // *Нефрология*. – 2017. – Т. 21. – № 2. – С. 33-40.
5. Бобкова, И.Н. Клиническое значение определения экскреции с мочой нефрина и подоцина у больных сахарным диабетом / И.Н. Бобкова, А.А. Щукина, М.В. Шестакова // *Клиническая фармакология и терапия*. – 2017. – Т. 26. – № 5. – С. 31-36.
6. Stitt-Cavanagh, E. The podocyte in diabetic kidney disease / E. Stitt-Cavanagh, L. MacLeod, C.R.J. Kennedy // *TheScientificWorldJournal*. – 2009. – Vol. 9. – P. 1127-1139. DOI: 10.1100/tsw.2009.133.
7. Siu, B. Reduction in podocyte density as a pathologic feature in early diabetic nephropathy in rodents: Prevention by lipoic acid treatment / B. Siu, J. Saha, W.E. Smoyer et al. // *BMC Nephrology*. – 2006. – Vol. 7. – P. 1-11. DOI: 10.1186/1471-2369-7-6.
8. Бобкова, И.Н. Повреждение подоцитов при сахарном диабете / И.Н. Бобкова, А.А. Щукина, М.В. Шестакова // *Сахарный диабет*. – 2014. – Т. 17. – № 3. – С. 39-50.
9. Яркова, Н.А. Нефрин - ранний маркер повреждения почек при сахарном диабете

- 2-го типа / Н.А. Яркова// Медицинский альманах.– 2014. – Т. 47. – № 2. – С. 101-103.
10. Негликемические эффекты инкретинов у пациентов с длительным течением сахарного диабета 1-ого типа и хронической болезнью почек М.С. Арутюнова, А.М. Глазунова, О.В. Михалева [и др.]// Терапевтический архив.– 2015. – Т. 10. – С. 55-59.
11. Определение биомаркеров подоцитарного повреждения и фиброгенеза в моче больных сахарным диабетом / И.Н. Бобкова, Л.А. Боброва, А.А. Щукина [и др.] // Нефрология. – 2019. – Т. 23. – № 5. – С. 87-88.
12. Бобкова, И.Н. Диабетическая нефропатия – фокус на повреждение подоцитов / И.Н. Бобкова, М.В. Шестакова, А.А. Щукина // Нефрология. – 2015. – Т. 19. – № 2. – С. 33-44.
13. C. Savona-Ventura, C.E.M. History of diabetes Mellitus / C.E.M. C. Savona-Ventura. – 2009. – 13-24 p.
14. Шамхалова, М.Ш. Новые перспективы терапии пациентов с сахарным диабетом 2 типа / М. Ш. Шамхалова, Н.П. Трубицына, М.В. Шестакова // Сахарный диабет.– 2012. – Т. 15. – № 4. – С. 109-114.
16. Эпидемиологические характеристики сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический анализ по данным регистра сахарного диабета на 01.01.2021/ И.И. Дедов, М.В. Шестакова, О.К. Викулова [и др.]// Сахарный диабет. – 2021. – Т. 24. – № 3. – С. 204-221. DOI: 10.14341/DM12759
17. Levin, A. Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) CKD work group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. Vol. 3 / A. Levin, P.E. Stevens, R.W. Bilous et al. – 2013.
18. Национальные рекомендации. Хроническая болезнь почек: основные принципы скрининга, диагностики, профилактики и подходы к лечению/ А.В. Смирнов, Е. М. Шилов, В. А. Добронравов [и др.] // Нефрология. – 2012. – Т. 16. – № 1. – С.89-115.
19. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек: достижения, нерешенные проблемы и перспективы лечения / М.В. Шестакова, М.Ш. Шамхалова, И.Я. Ярек-

Мартынова [и др]. // Сахарный Диабет. – 2011. – Т.14. – № 1. – С. 81-88.

20.Эпидемиология хронической болезни почек в Российской Федерации по данным Федерального регистра взрослых пациентов с сахарным диабетом (2013–2016 гг.) / М. Ш. Шамхалова, О.К. Викулова [и др.] // Сахарный диабет. – 2018. – Т. 21. – № 3. – С. 160-169.

21.Kimmelstiel P, W.C. Intercapillary lesion in the glomeruli of the kidney. / W.C. Kimmelstiel P // Am J Pathol. – 1983. – P. 83-98.

22.Mogensen, C.E. The Stages in Diabetic Renal Disease: With Emphasis on the Stage of Incipient Diabetic Nephropathy / C.E. Mogensen, C.K. Christensen, E. Vittinghus // Diabetes. – 1983. – Vol. 32. – № Supplement_2. – P. 64-78. DOI: 10.2337/diab.32.2.S64.

23. Асламова, С. А. Взаимосвязь между активностью реакций перекисного окисления липидов и содержанием гликозаминогликанов в сыворотке крови больных сахарным диабетом 1 типа с различными стадиями нефропатии: дис... канд. мед. наук: 14.00.16, 14.00.03/Асламова Софья Александровна; Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАН. - Новосибирск, 2003. – 113с.-С. 89-93.

24.Tervaert, T.W.C. Pathologic Classification of Diabetic Nephropathy / T.W.C. Tervaert, A.L. Mooyaart, K. Amann et al. // Journal of the American Society of Nephrology. – 2010. – Vol. 21. – № 4. – P. 556-563. DOI: 10.1681/ASN.2010010010.

25.Gruden, G. Insight on the Pathogenesis of Diabetic Nephropathy from the Study of Podocyte and Mesangial Cell Biology. Vol. 1 / G. Gruden, P.C. Perin, G. Camussi. – 2005. – 27-40 p.

26.Ziyadeh, F.N. Pathogenesis of the Podocytopathy and Proteinuria in Diabetic Glomerulopathy. Vol. 4 / F.N. Ziyadeh, G. Wolf. – 2008. – 39-45 p.

27.Diez-Sampedro, A. Podocytopathy in diabetes: A metabolic and endocrine disorder / A. Diez-Sampedro, O. Lenz, A. Fornoni // American Journal of Kidney Diseases. – 2011. – Vol. 58. – № 4. – P. 637-646. DOI: 10.1053/j.ajkd.2011.03.035.

28.Kriz, W. The podocyte's response to stress: the enigma of foot process effacement / W. Kriz, I. Shirato, M. Nagata et al. // American Journal of Physiology-Renal Physiology.

– 2013. – Vol. 304. – № 4. – P. F333-F347. DOI: 10.1152/ajprenal.00478.2012.

29.Pavenstädt, H. Cell Biology of the Glomerular Podocyte / H. Pavenstädt, W. Kriz, M. Kretzler // *Physiological Reviews*. – 2003. – Vol. 83. – № 1. – P. 253-307. DOI: 10.1152/physrev.00020.2002.

30.Schell, C. The Evolving Complexity of the Podocyte Cytoskeleton / C. Schell, T.B. Huber // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2017. – Vol. 28. – № 11. – P. 3166-3174. DOI: 10.1681/ASN.2017020143.

31.Ichimura, K. Morphological Processes of Foot Process Effacement in Puromycin Aminonucleoside Nephrosis Revealed by FIB/SEM Tomography / K. Ichimura, T. Miyaki, Y. Kawasaki et al. // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2019. – Vol. 30. – № 1. – P. 96-108. DOI: 10.1681/ASN.2018020139.

32.Sever, S. Actin dynamics at focal adhesions: a common endpoint and putative therapeutic target for proteinuric kidney diseases / S. Sever, M. Schiffer // *Kidney International*. – 2018. – Vol. 93. – № 6. – P. 1298-1307. DOI: 10.1016/j.kint.2017.12.028.

33.Martin, C.E. Nephrin Signaling in the Podocyte: An Updated View of Signal Regulation at the Slit Diaphragm and Beyond / C.E. Martin, N. Jones // *Frontiers in Endocrinology*. – 2018. – Vol. 9. DOI: 10.3389/fendo.2018.00302.

34.Blaine, J. Regulation of the Actin Cytoskeleton in Podocytes / J. Blaine, J. Dylewski // *Cells*. – 2020. – Vol. 9. – № 7. – P. 1700. DOI: 10.3390/cells9071700.

35.Подоциты и сахарный диабет: функциональные нарушения и их молекулярные механизмы / А. О. Шпаков, Е. В. Казначеева ; Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, Институт цитологии Российской академии наук. — Санкт-Петербург : Политех-Пресс, 2021. — 243 с. : ил. ; 22 см. Библиогр.: с. 162—243.

36.Warejko, J.K. Whole Exome Sequencing of Patients with Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome / J.K. Warejko, W. Tan, A. Daga et al. // *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. – 2018. – Vol. 13. – № 1. – P. 53-62. DOI: 10.2215/CJN.04120417.

- 37.Kopp, J.B. Podocytopathies / J.B. Kopp, H.-J. Anders, K. Susztak et al. // Nature Reviews Disease Primers. – 2020. – Vol. 6. – № 1. – P. 68. DOI: 10.1038/s41572-020-0196-7.
- 38.Editorial, A. Kidney Damage in Metabolic Disorders (Obesity, Metabolic Syndrome, Diabetes Mellitus, Gout, Etc.) / A. Editorial // Nephrology (Saint-Petersburg). – 2019. – Vol. 23. – P. 75-88. DOI: 10.36485/1561-6274-2019-23-5-75-88.
- 39.Shankland, S.J. The podocyte's response to injury: Role in proteinuria and glomerulosclerosis / S.J. Shankland // Kidney International. – 2006. – Vol. 69. – № 12. – P. 2131-2147. DOI: 10.1038/sj.ki.5000410.
- 40.Fu, H. Diabetic kidney diseases revisited: A new perspective for a new era / H. Fu, S. Liu, S.I. Bastacky et al. // Molecular Metabolism. – 2019. – Vol. 30. – P. 250-263. DOI: 10.1016/j.molmet.2019.10.005.
- 41.Colhoun, H.M. Biomarkers of diabetic kidney disease / H.M. Colhoun, M.L. Marcovecchio // Diabetologia. – 2018. – Vol. 61. – № 5. – P. 996-1011. DOI: 10.1007/s00125-018-4567-5.
- 42.Чеботарева, Н.В. Роль подоцитарной дисфункции в прогрессировании хронического гломерулонефрита/ Н.В. Чеботарева, И.Н. Бобкова, Л.В. Лысенко// Терапевтический архив. – 2018. – Т.90. – № 6. – С. 92-97.
- 43.Chen, H.-C. Altering expression of $\alpha 3\beta 1$ integrin on podocytes of human and rats with diabetes / H.-C. Chen, C.-A. Chen, J.-Y. Guh et al. // Life Sciences. – 2000. – Vol. 67. – № 19. – P. 2345-2353. DOI: 10.1016/S0024-3205(00)00815-8.
- 44.Regoli, M. Alterations in the expression of the $\alpha 3\beta 1$ integrin in certain membrane domains of the glomerular epithelial cells (podocytes) in diabetes mellitus / M. Regoli, M. Bendayan // Diabetologia. – 1997. – Vol. 40. – № 1. – P. 15-22. DOI: 10.1007/s001250050637.
- 45.Steffes, M.W. Glomerular cell number in normal subjects and in type 1 diabetic patients / M.W. Steffes, D. Schmidt, R. Mccrery, J.M. Basgen // Kidney International. – 2001. – Vol. 59. – № 6. – P. 2104-2113. DOI: 10.1046/j.1523-1755.2001.00725.x.
- 46.Jim, B. Dysregulated nephrin in diabetic nephropathy of type 2 diabetes: A cross

- sectional study / B. Jim, M. Ghanta, A. Qipo et al. // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7. – № 5. DOI: 10.1371/journal.pone.0036041.
47. Nakamura, T. Urinary excretion of podocytes in patients with diabetic nephropathy / T. Nakamura, C. Ushiyama, S. Suzuki et al. // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2000. – Vol. 15. – № 9. – P. 1379-1383. DOI: 10.1093/ndt/15.9.1379.
48. Vogelmann, S.U. Urinary excretion of viable podocytes in health and renal disease / S.U. Vogelmann, W.J. Nelson, B.D. Myers, K. V. Lemley // American Journal of Physiology-Renal Physiology. – 2003. – Vol. 285. – № 1. – P. F40-F48. DOI: 10.1152/ajprenal.00404.2002.
49. Coward, R.J.M. Nephrin is critical for the action of insulin on human glomerular podocytes / R.J.M. Coward, G.I. Welsh, A. Koziell et al. // Diabetes. – 2007. – Vol. 56. – № 4. – P. 1127-1135. DOI: 10.2337/db06-0693.
50. Steffes, M.W. Glomerular cell number in normal subjects and in type 1 diabetic patients / M.W. Steffes, D. Schmidt, R. Mccrery, J.M. Basgen // Kidney International. – 2001. – Vol. 59. – № 6. – P. 2104-2113. DOI: 10.1046/j.1523-1755.2001.00725.x.
51. Meyer TW, Bennett PH, Nelson RG et al. Podocyte number predicts long-term urinary albumin excretion in Pima Indians with type II diabetes and microalbuminuria. Diabetologia. 1999.
52. Dalla Vestra, M. Is Podocyte Injury Relevant in Diabetic Nephropathy? / M. Dalla Vestra, A. Masiero, A.M. Roiter et al. // Diabetes. – 2003. – Vol. 52. – № 4. – P. 1031-1035. DOI: 10.2337/diabetes.52.4.1031.
53. White, K.E. Structural alterations to the podocyte are related to proteinuria in type 2 diabetic patients / K.E. White, R.W. Bilous // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2004. – Vol. 19. – № 6. – P. 1437-1440. DOI: 10.1093/ndt/gfh129.
54. Chen, Y. Diabetic Kidney Disease: Challenges, Advances, and Opportunities / Y. Chen, K. Lee, Z. Ni, J.C. He // Kidney Diseases. – 2020. – Vol. 6. – № 4. – P. 215-225. DOI: 10.1159/000506634.
55. Xie, K. Yes-associated protein regulates podocyte cell cycle re-entry and dedifferentiation in adriamycin-induced nephropathy / K. Xie, C. Xu, M. Zhang et al. //

Cell Death & Disease. – 2019. – Vol. 10. – № 12. – P. 915. DOI: 10.1038/s41419-019-2139-3.

56.Srivastava, T. Cell-cycle regulatory proteins in the podocyte in collapsing glomerulopathy in children / T. Srivastava, R.E. Garola, H.K. Singh // *Kidney International*. – 2006. – Vol. 70. – № 3. – P. 529-535. DOI: 10.1038/sj.ki.5001577.

57.Lassén, E. Molecular Mechanisms in Early Diabetic Kidney Disease: Glomerular Endothelial Cell Dysfunction / E. Lassén, I.S. Daehn // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21. – № 24. – P. 9456. DOI: 10.3390/ijms21249456.

58.Susztak, K. Glucose-induced reactive oxygen species cause apoptosis of podocytes and podocyte depletion at the onset of diabetic nephropathy. / K. Susztak, A.C. Raff, M. Schiffer, E.P. Böttinger // *Diabetes*. – 2006. – Vol. 55. – № 1. – P. 225-33.

59.Herbach, N. Diabetic kidney lesions of GIPR^{dn} transgenic mice: podocyte hypertrophy and thickening of the GBM precede glomerular hypertrophy and glomerulosclerosis / N. Herbach, I. Schairer, A. Blutke et al. // *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. – 2009. – Vol. 296. – № 4. – P. F819-F829. DOI: 10.1152/ajprenal.90665.2008.

60.Hoshi, S. Podocyte Injury Promotes Progressive Nephropathy in Zucker Diabetic Fatty Rats / S. Hoshi, Y. Shu, F. Yoshida et al. // *Laboratory Investigation*. – 2002. – Vol. 82. – № 1. – P. 25-35. DOI: 10.1038/labinvest.3780392.

61.Xu, Z.-G. Angiotensin II receptor blocker inhibits p27Kip1 expression in glucose-stimulated podocytes and in diabetic glomeruli / Z.-G. Xu, T.-H. Yoo, D.-R. Ryu et al. // *Kidney International*. – 2005. – Vol. 67. – № 3. – P. 944-952. DOI: 10.1111/j.1523-1755.2005.00158.x.

62.Liu, Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention. / Y. Liu // *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. – 2004. – Vol. 15. – № 1. – P. 1-12. DOI: 10.1097/01.asn.0000106015.29070.e7.

63.Sanchez-Niño, M.D. HSP27/HSPB1 as an adaptive podocyte antiapoptotic protein activated by high glucose and angiotensin II / M.D. Sanchez-Niño, A.B. Sanz, E.

- Sanchez-Lopez et al. // *Laboratory Investigation*. – 2012. – Vol. 92. – № 1. – P. 32-45. DOI: 10.1038/labinvest.2011.138.
- 64.Liu, Y. New Insights into Epithelial-Mesenchymal Transition in Kidney Fibrosis / Y. Liu // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2010. – Vol. 21. – № 2. – P. 212-222. DOI: 10.1681/ASN.2008121226.
- 65.Zhao, L. Serum response factor provokes epithelial-mesenchymal transition in renal tubular epithelial cells of diabetic nephropathy. / L. Zhao, L. Chi, J. Zhao et al. // *Physiological genomics*. – 2016. – Vol. 48. – № 8. – P. 580-8. DOI: 10.1152/physiolgenomics.00058.2016.
- 66.Ying, Q. Molecular mechanisms involved in podocyte EMT and concomitant diabetic kidney diseases: an update / Q. Ying, G. Wu // *Renal Failure*. – 2017. – Vol. 39. – № 1. – P. 474-483. DOI: 10.1080/0886022X.2017.1313164.
- 67.Wullschleger, S. TOR Signaling in Growth and Metabolism / S. Wullschleger, R. Loewith, M.N. Hall // *Cell*. – 2006. – Vol. 124. – № 3. – P. 471-484. DOI: 10.1016/j.cell.2006.01.016.
- 68.Torres, V.E. Prospects for mTOR Inhibitor Use in Patients with Polycystic Kidney Disease and Hamartomatous Diseases / V.E. Torres, A. Boletta, A. Chapman et al. // *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. – 2010. – Vol. 5. – № 7. – P. 1312-1329. DOI: 10.2215/CJN.01360210.
- 69.Шпаков, А.О. Молекулярные механизмы апоптоза гломерулярных подоцитов в условиях диабетической нефропатии / А.О. Шпаков, Е.В. Казначеева // *Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии*. – 2020. – Т. 37. – № 4. – С. 243-263. DOI: 10.31857/S0233475520030056.
- 70.D. Sarbassov, Dos. Rictor, a Novel Binding Partner of mTOR, Defines a Rapamycin-Insensitive and Raptor-Independent Pathway that Regulates the Cytoskeleton / Dos D. Sarbassov, S.M. Ali, D.-H. Kim et al. // *Current Biology*. – 2004. – Vol. 14. – № 14. – P. 1296-1302. DOI: 10.1016/j.cub.2004.06.054.
- 71.Gurusamy, N. Cardioprotection by resveratrol: a novel mechanism via autophagy involving the mTORC2 pathway / N. Gurusamy, I. Lekli, S. Mukherjee et al. //

- Cardiovascular Research. – 2010. – Vol. 86. – № 1. – P. 103-112. DOI: 10.1093/cvr/cvp384.
- 72.Shortt, J. Combined inhibition of PI3K-related DNA damage response kinases and mTORC1 induces apoptosis in MYC-driven B-cell lymphomas / J. Shortt, B.P. Martin, A. Newbold et al. // Blood. – 2013. – Vol. 121. – № 15. – P. 2964-2974. DOI: 10.1182/blood-2012-08-446096.
- 73.Lu, Q. Quercetin inhibits the mTORC1/p70S6K signaling-mediated renal tubular epithelial–mesenchymal transition and renal fibrosis in diabetic nephropathy / Q. Lu, X.-J. Ji, Y.-X. Zhou et al. // Pharmacological Research. – 2015. – Vol. 99. – P. 237-247. DOI: 10.1016/j.phrs.2015.06.006.
- 74.Zhang, H.-T. The mTORC2/Akt/NFκB Pathway-Mediated Activation of TRPC6 Participates in Adriamycin-Induced Podocyte Apoptosis / H.-T. Zhang, W.-W. Wang, L.-H. Ren et al. // Cellular Physiology and Biochemistry. – 2016. – Vol. 40. – № 5. – P. 1079-1093. DOI: 10.1159/000453163.
- 75.Ren, X. Irbesartan Ameliorates Diabetic Nephropathy by Reducing the Expression of Connective Tissue Growth Factor and Alpha-Smooth-Muscle Actin in the Tubulointerstitium of Diabetic Rats / X. Ren, G. Guan, G. Liu, G. Liu // Pharmacology. – 2009. – Vol. 83. – № 2. – P. 80-87. DOI: 10.1159/000180123.
- 76.Wolf, G. From the Periphery of the Glomerular Capillary Wall Toward the Center of Disease / G. Wolf, S. Chen, F.N. Ziyadeh // Diabetes. – 2005. – Vol. 54. – № 6. – P. 1626-1634. DOI: 10.2337/diabetes.54.6.1626.
- 77.Achari, A. Adiponectin, a Therapeutic Target for Obesity, Diabetes, and Endothelial Dysfunction / A. Achari, S. Jain // International Journal of Molecular Sciences. – 2017. – Vol. 18. – № 6. – P. 1321. DOI: 10.3390/ijms18061321.
- 78.Ожирение – фактор риска поражения почек у больных сахарным диабетом 2 типа/С.А. Савельева, А.А. Крячкова, К.О. Курумова [и др.]//Сахарный диабет– 2010. –№ 2. – С. 45-49.
- 79.Sharma, K. Adiponectin regulates albuminuria and podocyte function in mice / K. Sharma, S. RamachandraRao, G. Qiu et al. // Journal of Clinical Investigation. – 2008.

DOI: 10.1172/JCI32691.

80.Martinez Cantarin, M.P. The adipose tissue production of adiponectin is increased in end-stage renal disease / M.P. Martinez Cantarin, S.A. Waldman, C. Doria et al. // *Kidney International*. – 2013. – Vol. 83. – № 3. – P. 487-494. DOI: 10.1038/ki.2012.421.

81.Kim, Y. Adenosine monophosphate-activated protein kinase in diabetic nephropathy / Y. Kim, C.W. Park // *Kidney Research and Clinical Practice*. – 2016. – Vol. 35. – № 2. – P. 69-77. DOI: 10.1016/j.krcp.2016.02.004.

82.Lee, J.Y. Adiponectin for the treatment of diabetic nephropathy / J.Y. Lee, J.W. Yang, B.G. Han et al. // *The Korean Journal of Internal Medicine*. – 2019. – Vol. 34. – № 3. – P. 480-491. DOI: 10.3904/kjim.2019.109.

83.Ho, J. Podocyte-Specific Loss of Functional MicroRNAs Leads to Rapid Glomerular and Tubular Injury / J. Ho, K.H. Ng, S. Rosen et al. // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2008. – Vol. 19. – № 11. – P. 2069-2075. DOI: 10.1681/ASN.2008020162.

84.Harvey, S.J. Podocyte-Specific Deletion of Dicer Alters Cytoskeletal Dynamics and Causes Glomerular Disease / S.J. Harvey, G. Jarad, J. Cunningham et al. // *Journal of the American Society of Nephrology*. – 2008. – Vol. 19. – № 11. – P. 2150-2158. DOI: 10.1681/ASN.2008020233.

85.Kato, M. MicroRNA-192 in diabetic kidney glomeruli and its function in TGF- β -induced collagen expression via inhibition of E-box repressors / M. Kato, J. Zhang, M. Wang et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2007. – Vol. 104. – № 9. – P. 3432-3437. DOI: 10.1073/pnas.0611192104.

86.DiStefano, J.K. Beyond the Protein-Coding Sequence: Noncoding RNAs in the Pathogenesis of Type 2 Diabetes / J.K. DiStefano // *The Review of Diabetic Studies*. – 2015. – Vol. 12. – № 3-4. – P. 260-276. DOI: 10.1900/RDS.2015.12.260.

87.Kestilä, M. Positionally Cloned Gene for a Novel Glomerular Protein—Nephrin—Is Mutated in Congenital Nephrotic Syndrome / M. Kestilä, U. Lenkkeri, M. Männikkö et al. // *Molecular Cell*. – 1998. – Vol. 1. – № 4. – P. 575-582. DOI: 10.1016/S1097-2765(00)80057-X.

- 88.Grahammer, F. A flexible, multilayered protein scaffold maintains the slit in between glomerular podocytes / F. Grahammer, C. Wigge, C. Schell et al. // *JCI Insight*. – 2016. – Vol. 1. – № 9. DOI: 10.1172/jci.insight.86177.
- 89.Huh, W. Expression of nephrin in acquired human glomerular disease / W. Huh, D.J. Kim, M. Kim et al. // *Nephrology Dialysis Transplantation*. – 2002. – Vol. 17. – № 3. – P. 478-484. DOI: 10.1093/ndt/17.3.478.
- 90.Jones, N. Nck adaptor proteins link nephrin to the actin cytoskeleton of kidney podocytes / N. Jones, I.M. Blasutig, V. Eremina et al. // *Nature*. – 2006. – Vol. 440. – № 7085. – P. 818-823. DOI: 10.1038/nature04662.
- 91.Jim, B. Dysregulated nephrin in diabetic nephropathy of type 2 diabetes: A cross sectional study / B. Jim, M. Ghanta, A. Qipo et al. // *PLoS ONE*. – 2012. – Vol. 7. – № 5. DOI: 10.1371/journal.pone.0036041.
- 92.Pätäri, A. Nephriuria in Diabetic Nephropathy of Type 1 Diabetes / A. Pätäri, C. Forsblom, M. Havana et al. // *Diabetes*. – 2003. – Vol. 52. – № 12. – P. 2969-2974. DOI: 10.2337/diabetes.52.12.2969.
- 93.Takeda, T. Loss of glomerular foot processes is associated with uncoupling of podocalyxin from the actin cytoskeleton / T. Takeda, T. McQuistan, R.A. Orlando, M.G. Farquhar // *Journal of Clinical Investigation*. – 2001. – Vol. 108. – № 2. – P. 289-301. DOI: 10.1172/JCI12539.
- 94.Takeda, T. Expression of Podocalyxin Inhibits Cell–Cell Adhesion and Modifies Junctional Properties in Madin-Darby Canine Kidney Cells / T. Takeda, W.Y. Go, R.A. Orlando, M.G. Farquhar // *Molecular Biology of the Cell*. – 2000. – Vol. 11. – № 9. – P. 3219-3232. DOI: 10.1091/mbc.11.9.3219.
- 95.Refaeli, I. Distinct Functional Requirements for Podocalyxin in Immature and Mature Podocytes Reveal Mechanisms of Human Kidney Disease / I. Refaeli, M.R. Hughes, A.K.-W. Wong et al. // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10. – № 1. – P. 9419. DOI: 10.1038/s41598-020-64907-3.
- 96.Li, Y. Structure of the F-spondin domain of mindin, an integrin ligand and pattern recognition molecule / Y. Li, C. Cao, W. Jia et al. // *The EMBO Journal*. – 2009. –

- Vol. 28. – № 3. – P. 286-297. DOI: 10.1038/emboj.2008.288.
97. Murakoshi, M. Role of Mindin in Diabetic Nephropathy / M. Murakoshi, T. Gohda, M. Tanimoto et al. // *Experimental Diabetes Research*. – 2011. – Vol. 2011. – P. 1-6. DOI: 10.1155/2011/486305.
98. Yang, K. Mindin deficiency alleviates renal fibrosis through inhibiting NF- κ B and TGF- β /Smad pathways / K. Yang, W. Li, T. Bai et al. // *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. – 2020. – Vol. 24. – № 10. – P. 5740-5750. DOI: 10.1111/jcmm.15236.
99. Лебедева, Н.О. Маркеры доклинической диагностики диабетической нефропатии у пациентов с сахарным диабетом 1 типа / Н.О. Лебедева, О.К. Викулова // *Сахарный Диабет*. – 2012. – № 2. – С. 38-45.
100. Durvasula, R. V. Activation of a local tissue angiotensin system in podocytes by mechanical strain // See Editorial by Kriz, p. 333. / R. V. Durvasula, A.T. Petermann, K. Hiromura et al. // *Kidney International*. – 2004. – Vol. 65. – № 1. – P. 30-39. DOI: 10.1111/j.1523-1755.2004.00362.x.
101. Márquez, E. Renin-angiotensin system within the diabetic podocyte / E. Márquez, M. Riera, J. Pascual, M.J. Soler // *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. – 2015. – Vol. 308. – № 1. – P. F1-F10. DOI: 10.1152/ajprenal.00531.2013.
102. Ichihara, A. The (Pro)Renin Receptor and the Kidney / A. Ichihara, Y. Kaneshiro, T. Takemitsu et al. // *Seminars in Nephrology*. – 2007. – Vol. 27. – № 5. – P. 524-528. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2007.07.005.
103. Parving, H.-H. Aliskiren Combined with Losartan in Type 2 Diabetes and Nephropathy / H.-H. Parving, F. Persson, J.B. Lewis et al. // *New England Journal of Medicine*. – 2008. – Vol. 358. – № 23. – P. 2433-2446. DOI: 10.1056/NEJMoa0708379.
104. Ding, G. Angiotensin II induces apoptosis in rat glomerular epithelial cells / G. Ding, K. Reddy, A.A. Kapasi et al. // *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. – 2002. – Vol. 283. – № 1. – P. F173-F180. DOI: 10.1152/ajprenal.00240.2001.
105. Vergara, A. Enhanced Cardiorenal Protective Effects of Combining SGLT2 Inhibition, Endothelin Receptor Antagonism and RAS Blockade in Type 2 Diabetic Mice / A. Vergara, C. Jacobs-Cacha, C. Llorens-Cebria et al. // *International Journal of*

Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23. – № 21. – P. 12823. DOI: 10.3390/ijms232112823.

106.Flannery, P.J. Transactivation of the Epidermal Growth Factor Receptor by Angiotensin II in Glomerular Podocytes / P.J. Flannery, R.F. Spurney // Nephron Experimental Nephrology. – 2006. – Vol. 103. – № 3. – P. e109-e118. DOI: 10.1159/000092196.

107.Liu, X. Blockade of vascular endothelial growth factor-A/receptor 2 exhibits a protective effect on angiotensin-II stimulated podocytes. / X. Liu, H. Zhang, Q. Wang et al. // Molecular medicine reports. – 2015. – Vol. 12. – № 3. – P. 4340-4345. DOI: 10.3892/mmr.2015.3911.

108.Antar, S.A. Telmisartan attenuates diabetic nephropathy by mitigating oxidative stress and inflammation, and upregulating Nrf2/HO-1 signaling in diabetic rats. / S.A. Antar, W. Abdo, R.S. Taha et al. // Life sciences. – 2022. – Vol. 291. – P. 120260. DOI: 10.1016/j.lfs.2021.120260.

109.Böttinger, E.P. TGF- β in Renal Injury and Disease / E.P. Böttinger // Seminars in Nephrology. – 2007. – Vol. 27. – № 3. – P. 309-320. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2007.02.009.

110.Stacy, A.J. Δ Np63 α and microRNAs: leveraging the epithelial-mesenchymal transition / A.J. Stacy, M.P. Craig, S. Sakaram, M. Kadakia // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8. – № 2. – P. 2114-2129. DOI: 10.18632/oncotarget.13797.

111.Srivastava, S.P. microRNA Crosstalk Influences Epithelial-to-Mesenchymal, Endothelial-to-Mesenchymal, and Macrophage-to-Mesenchymal Transitions in the Kidney / S.P. Srivastava, A.F. Hedayat, K. Kanasaki, J.E. Goodwin // Frontiers in Pharmacology. – 2019. – Vol. 10. DOI: 10.3389/fphar.2019.00904.

112.Ziyadeh, F. Pathogenesis of the Podocytopathy and Proteinuria in Diabetic Glomerulopathy / F. Ziyadeh, G. Wolf // Current Diabetes Reviews. – 2008. – Vol. 4. – № 1. – P. 39-45. DOI: 10.2174/157339908783502370.

113.Li, Y. Epithelial-to-Mesenchymal Transition Is a Potential Pathway Leading to Podocyte Dysfunction and Proteinuria / Y. Li, Y.S. Kang, C. Dai et al. // The American

- Journal of Pathology. – 2008. – Vol. 172. – № 2. – P. 299-308. DOI: 10.2353/ajpath.2008.070057.
114. Yamaguchi, Y. Epithelial-Mesenchymal Transition as a Potential Explanation for Podocyte Depletion in Diabetic Nephropathy / Y. Yamaguchi, M. Iwano, D. Suzuki et al. // American Journal of Kidney Diseases. – 2009. – Vol. 54. – № 4. – P. 653-664. DOI: 10.1053/j.ajkd.2009.05.009.
115. Quinlan, C. Genetic Basis of Type IV Collagen Disorders of the Kidney / C. Quinlan, M.N. Rheault // Clinical Journal of the American Society of Nephrology. – 2021. – Vol. 16. – № 7. – P. 1101-1109. DOI: 10.2215/CJN.19171220.
116. Cohen, M.P. Increased Collagen IV Excretion in Diabetes / M.P. Cohen, G.T. Lautenslager, C.W. Shearman // Diabetes Care. – 2001. – Vol. 24. – № 5. – P. 914-918. DOI: 10.2337/diacare.24.5.914.
117. Furumatsu, Y. Urinary Type IV Collagen in Nondiabetic Kidney Disease / Y. Furumatsu, Y. Nagasawa, T. Shoji et al. // Nephron Clinical Practice. – 2010. – Vol. 117. – № 2. – P. c160-c166. DOI: 10.1159/000319794.
118. Михалева, О.В. Оценка нефропротективных эффектов терапии ингибиторами дипептидилпептидазы 4 типа у пациентов сахарным диабетом 2 типа: дис... канд.мед. наук: 14.01.02/Михалева Ольга Валентиновна; «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии».- Москва, 2019.- С.40-41.
119. Chen, S. Angiotensin II stimulates $\alpha 3(\text{IV})$ collagen production in mouse podocytes via TGF- β and VEGF signalling: implications for diabetic glomerulopathy / S. Chen, J.S. Lee, M.C. Iglesias-de la Cruz et al. // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2005. – Vol. 20. – № 7. – P. 1320-1328. DOI: 10.1093/ndt/gfh837.
120. Tung, C.-W. Glomerular mesangial cell and podocyte injuries in diabetic nephropathy / C.-W. Tung, Y.-C. Hsu, Y.-H. Shih et al. // Nephrology. – 2018. – Vol. 23. – P. 32-37. DOI: 10.1111/nep.13451.
121. Veron, D. Podocyte vascular endothelial growth factor (Vegf 164) overexpression causes severe nodular glomerulosclerosis in a mouse model of type 1 diabetes / D. Veron, C.A. Bertuccio, A. Marlier et al. // Diabetologia. – 2011. – Vol. 54. – № 5. – P. 1227-

1241. DOI: 10.1007/s00125-010-2034-z.

122.Kim, N.H. Plasma and urinary vascular endothelial growth factor and diabetic nephropathy in Type 2 diabetes mellitus / N.H. Kim, K.B. Kim, D.L. Kim et al. // *Diabetic Medicine*. – 2004. – Vol. 21. – № 6. – P. 545-551. DOI: 10.1111/j.1464-5491.2004.01200.x.

123.Tufro, A. VEGF and Podocytes in Diabetic Nephropathy / A. Tufro, D. Veron // *Seminars in Nephrology*. – 2012. – Vol. 32. – № 4. – P. 385-393. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2012.06.010.

124.Fan, Q. Reduction in VEGF Protein and Phosphorylated Nephrin Associated with Proteinuria in Adriamycin Nephropathy Rats / Q. Fan, Y. Xing, J. Ding, N. Guan // *Nephron Experimental Nephrology*. – 2009. – Vol. 111. – № 4. – P. e92-e102. DOI: 10.1159/000209209.

125.Tufro, A. VEGF and Podocytes in Diabetic Nephropathy / A. Tufro, D. Veron // *Seminars in Nephrology*. – 2012. – Vol. 32. – № 4. – P. 385-393. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2012.06.010.

126.Lewis, E.J. The Effect of Angiotensin-Converting-Enzyme Inhibition on Diabetic Nephropathy / E.J. Lewis, L.G. Hunsicker, R.P. Bain, R.D. Rohde // *New England Journal of Medicine*. – 1993. – Vol. 329. – № 20. – P. 1456-1462. DOI: 10.1056/NEJM199311113292004.

127.Maschio, G. Effect of the Angiotensin-Converting–Enzyme Inhibitor Benazepril on the Progression of Chronic Renal Insufficiency / G. Maschio, D. Alberti, G. Janin et al. // *New England Journal of Medicine*. – 1996. – Vol. 334. – № 15. – P. 939-945. DOI: 10.1056/NEJM199604113341502.

128.Lewis, E.J. Renoprotective Effect of the Angiotensin-Receptor Antagonist Irbesartan in Patients with Nephropathy Due to Type 2 Diabetes / E.J. Lewis, L.G. Hunsicker, W.R. Clarke et al. // *New England Journal of Medicine*. – 2001. – Vol. 345. – № 12. – P. 851-860. DOI: 10.1056/NEJMoa011303.

129.Cooper, M.E. Irbesartan normalises the deficiency in glomerular nephrin expression in a model of diabetes and hypertension / M.E. Cooper, G. Boner, Z. Cao et al. //

- Diabetologia. – 2001. – Vol. 44. – № 7. – P. 874-877. DOI: 10.1007/s001250100546.
- 130.Kelly, D.J. Expression of the slit-diaphragm protein, nephrin, in experimental diabetic nephropathy: differing effects of anti-proteinuric therapies / D.J. Kelly // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2002. – Vol. 17. – № 7. – P. 1327-1332. DOI: 10.1093/ndt/17.7.1327.
- 131.Nishiyama, A. Strict angiotensin blockade prevents the augmentation of intrarenal angiotensin II and podocyte abnormalities in type 2 diabetic rats with microalbuminuria / A. Nishiyama, T. Nakagawa, H. Kobori et al. // Journal of Hypertension. – 2008. – Vol. 26. – № 9. – P. 1849-1859. DOI: 10.1097/HJH.0b013e3283060efa.
- 132.R., L. Proteinuria and the expression of the podocyte slit diaphragm protein, nephrin, in diabetic nephropathy: effects of angiotensin converting enzyme inhibition / L. R., K. D., C. A. et al. // Diabetologia. – 2002. – Vol. 45. – № 11. – P. 1572-1576. DOI: 10.1007/s00125-002-0946-y.
- 133.Wang, G. Urinary messenger RNA expression of podocyte-associated molecules in patients with diabetic nephropathy treated by angiotensin-converting enzyme inhibitor and angiotensin receptor blocker / G. Wang, F.M.-M. Lai, K.-B. Lai et al. // European Journal of Endocrinology. – 2008. – Vol. 158. – № 3. – P. 317-322. DOI: 10.1530/EJE-07-0708.
- 134.Liu, Y. Combined losartan and nitro-oleic acid remarkably improves diabetic nephropathy in mice / Y. Liu, Z. Jia, S. Liu et al. // American Journal of Physiology-Renal Physiology. – 2013. – Vol. 305. – № 11. – P. F1555-F1562. DOI: 10.1152/ajprenal.00157.2013.
- 135.Zoja, C. Adding a statin to a combination of ACE inhibitor and ARB normalizes proteinuria in experimental diabetes, which translates into full renoprotection / C. Zoja, D. Corna, E. Gagliardini et al. // American Journal of Physiology-Renal Physiology. – 2010. – Vol. 299. – № 5. – P. F1203-F1211. DOI: 10.1152/ajprenal.00045.2010.
- 136.Gagliardini, E. Unlike each drug alone, lisinopril if combined with avosentan promotes regression of renal lesions in experimental diabetes / E. Gagliardini, D. Corna, C. Zoja et al. // American Journal of Physiology-Renal Physiology. – 2009. – Vol. 297. –

№ 5. – P. F1448-F1456. DOI: 10.1152/ajprenal.00340.2009.

137.Pichaiwong, W. Reversibility of Structural and Functional Damage in a Model of Advanced Diabetic Nephropathy / W. Pichaiwong, K.L. Hudkins, T. Wietecha et al. // Journal of the American Society of Nephrology. – 2013. – Vol. 24. – № 7. – P. 1088-1102. DOI: 10.1681/ASN.2012050445.

138.Riera, M. Effect of Insulin on ACE2 Activity and Kidney Function in the Non-Obese Diabetic Mouse / M. Riera, E. Márquez, S. Clotet et al. // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9. – № 1. – P. e84683. DOI: 10.1371/journal.pone.0084683.

139.Zhang, Y. PPAR- γ agonists and diabetic nephropathy / Y. Zhang, Y. Guan // Current Diabetes Reports. – 2005. – Vol. 5. – № 6. – P. 470-475. DOI: 10.1007/s11892-005-0057-5.

140.Balasubramanian, R. Combination peroxisome proliferator-activated receptor γ and α agonist treatment in Type 2 diabetes prevents the beneficial pioglitazone effect on liver fat content / R. Balasubramanian, J. Gerrard, C. Dalla Man et al. // Diabetic Medicine. – 2010. – Vol. 27. – № 2. – P. 150-156. DOI: 10.1111/j.1464-5491.2009.02906.x.

141.Benigni, A. Transcriptional Regulation of Nephric Gene by Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Agonist: Molecular Mechanism of the Antiproteinuric Effect of Pioglitazone / A. Benigni, C. Zoja, S. Tomasoni et al. // Journal of the American Society of Nephrology. – 2006. – Vol. 17. – № 6. – P. 1624-1632. DOI: 10.1681/ASN.2005090983.

142.Lennon, R. Rosiglitazone enhances glucose uptake in glomerular podocytes using the glucose transporter GLUT1 / R. Lennon, G.I. Welsh, A. Singh et al. // Diabetologia. – 2009. – Vol. 52. – № 9. – P. 1944-1952. DOI: 10.1007/s00125-009-1423-7.

143.Zhang, H. Rosiglitazone reduces renal and plasma markers of oxidative injury and reverses urinary metabolite abnormalities in the amelioration of diabetic nephropathy / H. Zhang, J. Saha, J. Byun et al. // American Journal of Physiology-Renal Physiology. – 2008. – Vol. 295. – № 4. – P. F1071-F1081. DOI: 10.1152/ajprenal.90208.2008.

144.Непринцева, Н. В. Определение белков теплового шока в моче и ткани почки, значение в оценке активности и прогрессирования хронического

гломерулонефрита: дис... канд.мед. наук: 14.01.29/ Непринцева Наталья Викторовна; Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации.- Москва,2015.-104с.-45-48.

145.Чеботарева, Н.В. Нефринурия как показатель структурно-функциональных нарушений гломерулярного фильтра у больных протеинурическими формами нефрита / Н.В.Чеботарева, И.Н. Бобкова, Л.В. Козловская// Клиническая нефрология. – 2012. – № 2. – С. 38-45.

146.Герасимов, А. Н. Медицинская статистика/А.Н. Герасимов: учеб. пособие для студентов мед. вузов – Москва: Медицинское информационное агентство, 2007.– 480 с. ISBN 5-89481-456-1.с.- С. 256-258.

147.Bobkova, I. New Insights into the Molecular Mechanisms of Podocytes Injury in Diabetes / I. Bobkova, N. Chebotareva, A. Schukina et al. // Journal of Clinical & Experimental Nephrology. – 2018. – Vol. 03. – № 03. DOI: 10.21767/2472-5056.100068.

148.Зураева, З. Т. Прогнозирование риска диабетической нефропатии у больных сахарным диабетом 1 типа и оценка нефропротективных эффектов терапии инкретинами: дис... канд.мед. наук: 14.01.02 / Зураева Замира Тотразовна; «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии», Москва,2019.-94с.-С. 58-68.

149.Schukina, A. Мр431Clinical Significance of Urinary Markers of Podocytes Damage in Patients With Diabetes Mellitus (Dm) / A. Schukina, I. Bobkova, M. Shestakova et al. // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2016. – Vol. 31. – № suppl_1. – P. i483-i483. DOI: 10.1093/ndt/gfw193.05.

150.Bobkova, I.N. Assessment of Nephrin and Podocin Levels in the Urine of Patients With Diabetes Mellitus / I.N. Bobkova, A.A. Shchukina, M. V. Shestakova // Nephrology (Saint-Petersburg). – 2017. – Vol. 21. – № 2. – P. 33-40. DOI: 10.24884/1561-6274-2017-21-2-33-40.

151.Zhang, L. Research Progress on the Pathological Mechanisms of Podocytes in Diabetic Nephropathy / L. Zhang, Z. Wen, L. Han et al. // Journal of Diabetes Research. – 2020. – Vol. 2020. – P. 1-15. DOI: 10.1155/2020/7504798.

152.Pätäri, A. Nephriuria in Diabetic Nephropathy of Type 1 Diabetes / A. Pätäri, C. Forsblom, M. Havana et al. // Diabetes. – 2003. – Vol. 52. – № 12. – P. 2969-2974. DOI: 10.2337/diabetes.52.12.2969.

153.Jim, B. Dysregulated Nephrin in Diabetic Nephropathy of Type 2 Diabetes: A Cross Sectional Study / B. Jim, M. Ghanta, A. Qipo et al. // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7. – № 5. – P. e36041. DOI: 10.1371/journal.pone.0036041.