

Маркеры доклинической диагностики диабетической нефропатии у пациентов с сахарным диабетом 1 типа

Лебедева Н.О., Викулова О.К.

ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва
(директор — академик РАН и РАМН И.И.Дедов)

В связи с прогрессирующим характером течения диабетической нефропатии (ДН) и ограниченной эффективностью терапии на выраженных стадиях, доклиническая диагностика данного осложнения, когда изменения в почках потенциально обратимы, приобретает особую актуальность. Однако исследование мочи на микроальбуминурию является единственным используемым в настоящее время методом ранней диагностики ДН. Статья представляет собой обзор литературы по изучению потенциальных маркеров доклинической диагностики ДН у пациентов с сахарным диабетом 1 типа, в том числе, данные новейших экспериментальных и клинических исследований в этой области.

Ключевые слова: диабетическая нефропатия, сахарный диабет 1 типа, доклиническая диагностика, протеомный анализ

Pre-clinical markers for diagnosis of diabetic nephropathy in patients with type 1 diabetes mellitus

Lebedeva N.O., Vikulova O.K.

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

Due to progressive nature of diabetic nephropathy (DN) and limited effectiveness of therapeutic efforts at clinically overt stages, diagnosis of pre-clinical (and, therefore, potentially reversible) DN is especially important. To date, however, test for microalbuminuria remains the only technique applicable for early diagnostics of DN.

Current review addresses search for potential markers of pre-clinical stage of DN in patients with type 1 diabetes mellitus and embraces data from latest experimental and clinical studies in this area.

Key words: diabetic nephropathy, diabetes mellitus type 1, pre-clinical diagnostics, proteomic analysis

За последние десятилетия, в связи с развитием новых лабораторных методов, изменились возможности и стандарты диагностики диабетической патологии почек [1]. Тем не менее, современные скрининговые тесты позволяют выявлять диабетическую нефропатию (ДН) только с 1-й клинической стадии — стадии микроальбуминурии (МАУ), пропуская при этом начальные структурные и функциональные нарушения, которые развиваются задолго до повышения экскреции альбумина. Наиболее ранние признаки поражения почек можно обнаружить уже в первые 5 лет от дебюта сахарного диабета 1 типа (СД1) [2]. По мнению ряда исследователей, именно в этот период начало профилактических мероприятий с целью предупреждения прогрессирования ДН может быть наиболее эффективно.

Во всем мире ДН и развившаяся вследствие нее хроническая почечная недостаточность (ХПН) являются лидирующей причиной смертности больных СД1 [2]. Появление МАУ уже свидетельствует о наличии склероза не менее 20–25% нефронов, а прогрессирование до стадии протеинурии — о потере 50–70% клубочков, что указывает на необратимое поражение почек, когда эффективность проводимой терапии крайне ограничена, и прогрессивное снижение фильтрационной функции становится неизбежным [1]. Кроме того, в последние годы все большее значение в патогенезе ДН придается

тубулоинтерстициальным нарушениям, которые, по данным ряда исследований, предшествуют развитию гломерулярных повреждений [3].

Все вышеизложенное определяет актуальность поиска ранних неинвазивных маркеров доклинической (до появления МАУ) диагностики ДН.

Потенциальные маркеры развития ДН можно разделить на несколько подгрупп: 1) маркеры тубулярного повреждения; 2) продукты обмена внеклеточного матрикса; 3) подоциты и маркеры их повреждения; 4) факторы роста и 5) иммунновоспалительные факторы. В качестве основного метода ранней диагностики поражения почек предлагается определение мочевого экскреции данных веществ. Отдельную значимую веху в доклинической диагностике ДН представляет протеомный анализ, основанный на исследовании белкового спектра мочи.

1. Маркеры тубулярного повреждения

N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза (NAG, N-acetyl-beta-D-glucosaminidase) — лизосомальный фермент, присутствующий во многих тканях организма. Наиболее высокая активность NAG выявлена в почках, где фермент секретируется эпителием проксимальных канальцев и участвует в деградации мукополисахаридов и гликопротеинов. В норме из-за высокой молекулярной

массы (150 000 Да) NAG не проходит через гломерулярный барьер. При повреждении клеток эпителия происходит высвобождение NAG, что приводит к увеличению концентрации фермента в первичной моче. Таким образом, уровень NAG отражает степень тубулярного повреждения.

В ряде работ показано, что увеличение мочевого экскреции NAG выявляется еще до повышения уровня альбуминурии (у пациентов с нормоальбуминурией (НАУ)) и прогрессивно возрастает с появлением МАУ [4]. Согласно данным Vishal S. Vaidya и соавт. [5], более низкое содержание NAG у пациентов СД1 с ДН на стадии МАУ являлось предиктором последующего регресса уровня альбуминурии до нормы, по сравнению с пациентами с высоким содержанием NAG в моче, у которых МАУ прогрессировала до макроальбуминурии.

В исследовании E.F. Kern и соавт. [6] определяли концентрации NAG в моче у больных СД1 с МАУ (n=91) и макроальбуминурией (n=55) по сравнению с группой здорового контроля (n=178). Было выявлено, что экскреция NAG — независимый предиктор развития МАУ и макроальбуминурии с высоким уровнем значимости ($p < 0,001$). На основании этих данных был сделан вывод, что у пациентов с СД1 измерение NAG в моче может служить не менее информативным маркером ДН, чем исследование уровня альбуминурии.

Mohammadi-Karakani A. и соавт. [7] подтвердили, что мочевого экскреция NAG является более ранним маркером поражения почек, чем МАУ и снижение фильтрационной функции. Авторы работы показали, что тест на содержание NAG обладает высокой чувствительностью и специфичностью — 100% и 87,5% соответственно и предложили использовать его в клинической практике.

Нейтрофильный желатиназо-ассоциированный липокалин (NGAL, Neutrophil gelatinase-associated lipocalin) — белок из суперсемейства липокалинов, небольшая белковая молекула весом 25 KD, синтезируемая в разных органах и клетках, в том числе, в проксимальных канальцах почек, находящихся в состоянии стресса (воспаление, ишемия и др.).

NGAL — очень чувствительный и ранний маркер почечного повреждения. По данным различных исследований, концентрация NGAL в моче у пациентов с СД1 и СД 2 типа (СД2) выше, чем у здоровых людей более чем в 1,5 раза [8]. Установлено, что экскреция NGAL возрастает параллельно с прогрессированием уровня альбуминурии от НАУ до МАУ, и далее от стадии МАУ к макроальбуминурии [8, 9]. Этот показатель также достоверно коррелирует с такими важными параметрами функционального состояния почек, как уровни креатинина и альбумина сыворотки крови и скорость клубочковой фильтрации (СКФ) [8]. Стандартная нефропротективная терапия положительно влияет на уровень экскреции NGAL. Так, снижение содержания NGAL в моче отмечалось на фоне назначения блокатора рецепторов ангиотензина II (БРА) в экспериментальной модели ДН у мышей со стрептозотоцин-индуцированным СД [10] и при терапии ингибиторами ангиотензин-пре-

вращающего фермента (иАПФ) у пациентов с СД1 и ДН, однако в последней работе изменения уровня NGAL на фоне терапии не достигали уровня статистической значимости [8].

Молекула почечного повреждения 1-го типа (KIM-1, Kidney Injury Molecule-1) — трансмембранный гликопротеин из суперсемейства иммуноглобулинов, локализованный преимущественно в апикальной мембране проксимальных канальцев, содержание которого увеличивается на поверхности эпителиальных клеток при повреждении почек.

Результаты исследований мочевого экскреции KIM-1 неоднозначны. В ряде работ выявлена положительная корреляция уровня KIM-1 с выраженностью альбуминурии [4] и уровнем СКФ у пациентов с СД1 [4, 11], в других — такой закономерности найдено не было [8]. В работе [5] более низкий уровень KIM-1 наряду с меньшей экскрецией NGAL у пациентов с СД1 и МАУ оказался предиктором последующего регресса альбуминурии.

Белок, связывающий жирные кислоты, печеночная форма (LFABP, liver-type fatty acid-binding protein) — цитозольный транспортный протеин небольшой молекулярной массы (15 кДа), принимающий участие во внутриклеточном метаболизме и транспорте жирных кислот, в том числе, в дистальных канальцах почек.

В экспериментальных исследованиях на мышах с индуцированным СД было выявлено, что уровень мочевого экскреции LFABP отражает степень тубулоинтерстициального повреждения [12]. В ряде работ показано, что экскреция этого белка значимо выше при развитии ДН, чем у пациентов без нефропатии, что позволяет рассматривать его в качестве возможного маркера ранней диагностики ДН [4, 13]. В работе [4] именно LFABP, в отличие от других маркеров поражения почек — KIM-1 и NGAL, был наиболее значимым предиктором последующего снижения СКФ, не зависящим от уровня альбуминурии.

Уромодулин (Uromodulin, The Tamm-Horsfall glycoprotein) — гликопротеин, секретируемый в клетках петли Генле, в норме в больших количествах выделяется с мочой. Функции этого белка пока мало изучены. Предполагается его роль в регуляции водно-электролитного баланса, защите мочевого тракта от инфекций и развития нефролитиаза. Уромодулин является одним из маркеров повреждения дистальных канальцев. В ряде исследований показана потенциальная связь сниженной экскреции пептида с прогрессированием хронической болезни почек (ХБП) [14].

Ретинол-связывающий белок (RBP, retinol binding protein) и В₂-микроглобулин (b2-microglobulin)

RBP — низкомолекулярный (21 кДа) липокалин, содержащий 8 петель бета-складчатой структуры, специфически связывающий ретиноиды, в том числе — витамин А. В₂-микроглобулин представляет собой белок поверхностных антигенов клеточных ядер. Установлено его участие в процессах пролиферации лимфоцитов, где он сконцентрирован в наибольшей степени.

Эти белки фильтруются в клубочках и затем частично реабсорбируются в проксимальных канальцах почек — в норме они содержатся в моче в следовых количествах. При тубулярных повреждениях, вследствие снижения реабсорбции, отмечается увеличение экскреции пептидов, в связи с чем их используют в качестве маркеров канальцевых повреждений, а также предикторов развития ДН.

Однако работы по изучению RBP и В₂-микроглобулина в качестве маркеров развития ДН проводились в основном на пациентах с СД2. Описаны единичные исследования с участием больных СД1, показавшие достоверное повышение экскреции RBP и В₂-микроглобулина с мочой у пациентов с СД1 по сравнению с группой здорового контроля, а также наличие прямой корреляции между концентрацией белков и продолжительностью СД1 ($p < 0,0001$ и $p < 0,0001$ соответственно) [15].

2. Продукты обмена внеклеточного матрикса

Ведущую роль в склерозировании почек при СД отводят нарушениям метаболизма компонентов внеклеточного матрикса, а именно: повышению синтеза коллагена и уменьшению содержания протеогликанов. С избыточным накоплением матрикса связано развитие гломерулярного и интерстициального фиброза. Поэтому продукты обмена матрикса активно изучаются в качестве потенциальных маркеров ДН.

Коллаген IV типа (Type-IV collagen)

Коллаген является основным структурным элементом мезангиального матрикса клубочков почек. Описано 28 различных типов коллагена, однако более 90% от общего количества приходится на коллагены I, II, III и IV типов. Большинство работ по их изучению в качестве маркеров ДН посвящено коллагену IV типа. Это нефбрилярный коллаген, формирующий сеть микрофибрилл в экстрацеллюлярном матриксе соединительной ткани почек. Активация при СД целого комплекса метаболических, гемодинамических, иммуновоспалительных и профиброгенных факторов приводит к патологическому накоплению коллагена IV типа в клубочках и развитию склероза. Избыточный синтез коллагена закономерно сопровождается повышением экскреции продуктов его метаболизма, которые предложено использовать в качестве прогностических маркеров ДН.

В экспериментальных работах на модели СД у мышей показано, что аккумуляция коллагена IV типа наблюдается на очень ранних стадиях ДН и даже предшествует развитию таких классических проявлений начальной гломерулопатии, как гипертрофия клубочков и гиперфильтрация [16].

В ряде исследований выявлено увеличение содержания коллагена IV типа в моче у пациентов с СД по сравнению с группой контроля [17, 18], при этом установлено, что повышение его экскреции указывает на высокий риск снижения фильтрационной функции почек [19]. В нескольких работах показано повышение экскреции коллагена IV типа у больных СД с нефропатией [17, 18].

Обнаружено, что уровень мочевого экскреции коллагена постепенно увеличивается по мере прогрессирования ДН [18, 20]. Так, по данным исследования [20], повышение экскреции коллагена IV типа выявлялось у 26% пациентов с НАУ, у 58% — с МАУ и у 65%, с макроальбуминурией.

Результаты отдельных исследований свидетельствуют, что накопление коллагена IV типа более характерно именно для диабетического гломерулосклероза, чем для гломерулопатий другой этиологии [2]. По некоторым данным, содержание коллагена IV типа в моче в большей степени, чем альбуминурия, отражает процессы склероза почек [2] и более тесно связано с их фильтрационной функцией [19]. По мнению ряда авторов, коллаген IV типа может быть более специфичным маркером ДН, чем МАУ, развитие которой связывают не только с ДН, но также целым рядом других состояний — артериальной гипертонией, сердечно-сосудистой патологией и т.д. Согласно результатам одного из исследований, повышение экскреции фрагментов коллагена может быть намного более ранним и чувствительным маркером ДН, позволяющим прогнозировать развитие МАУ в среднем за 4 года до ее выявления [17].

Увеличение мочевого экскреции коллагена IV типа — один из 5 критериев, применяемых для ранней диагностики ДН, согласно официальным рекомендациям Комитета по диагностике ДН Японии (Japanese Diabetic Nephropathy Committee) [21].

Гепарансульфат (Heparan sulfate) — один из видов гликозаминогликанов (ГАГ), входящих в состав базальной мембраны клубочков (БМК). Отрицательно заряженные гепарансульфат-содержащие протеогликаны БМК препятствуют прохождению через почечный фильтр одноименно заряженных молекул альбумина. При гломерулярных повреждениях снижение уровня гепарансульфата ведет к утере отрицательного заряда мембраны и, как следствие, повышению ее проницаемости для альбумина и других белков.

Предполагается, что повышение содержания гепарансульфата в моче будет отражать начальные стадии диабетического поражения клубочков, возможно, даже раньше, чем уровень альбуминурии. Так, в ряде работ установлено, что повышение экскреции гепарансульфата наблюдается у больных СД1 по сравнению со здоровой контрольной группой и возрастает по мере увеличения альбуминурии и продолжительности ДН [22].

SMAD 1 протеины (SMAD 1, small mothers against decapentaplegic homolog 1) — модуляторы транскрипции, которые регулируют процессы клеточного роста, апоптоза, морфогенеза и иммунного ответа. В настоящее время показана ключевая роль SMAD 1 в регуляции транскрипции коллагена IV типа. Выявлено увеличение экскреции данного белка в эксперименте у мышей с индуцированным СД. Повышение уровня SMAD 1 в моче являлось предиктором экспансии межклеточного матрикса и коррелировало с развитием морфологических эквивалентов ДН сильнее, чем уровень альбуминурии и экскреции коллагена IV типа. Лечение блокаторами рецепторов

ангиотензина (БРА) не только приводило к снижению уровня SMAD 1 в моче, но и улучшало морфологическую картину в клубочках [23]. Таким образом, влияние на SMAD 1 в качестве потенциальной возможности обратного развития ДН может быть одним из перспективных направлений.

Пигментный эпителиальный фактор (PEDF, pigment epithelium-derived factor) — ингибитор сериновых протеаз, регулирует продукцию экстрацеллюлярного матрикса. В экспериментальных работах на животных моделях выявлено повышение экскреции PEDF при СД по сравнению со здоровыми особями. Также достоверно более высокий уровень PEDF в моче обнаружен у пациентов с СД1 и ДН по сравнению с группой контроля. Экскреция PEDF прямо коррелировала с уровнем альбуминурии [24].

Продукты обмена коллагена и коллагенолитические ферменты

Гидроксипролин (hydroxyproline) — аминокислота, входящая в состав коллагена. Увеличение экскреции пептидосвязанного и свободного гидроксипролина обнаружено у больных СД1 с МАУ и макроальбуминурией [16].

Матриксные металлопротеиназы (MMP, Matrix metalloproteinases) — семейство внеклеточных цинк-зависимых эндопептидаз, участвующих в процессах деградации белков внеклеточного матрикса. Накопление продуктов внеклеточного матрикса при ДН ведет к повышению активности MMP, которую отражает уровень экскреции MMP с мочой.

В работах российских авторов [25] выявлено повышение экскреции MMP-2 и MMP-9 при нарастании активности хронического гломерулонефрита (ХГН).

В ряде зарубежных исследований установлена ассоциация повышения активности различных изоформ этого фермента с развитием ДН [26, 27, 28]. Так, в эксперименте McKittrick I.B. и соавт. [26] на грызунах с индуцированным СД активность в моче MMP-2 была повышена, однако не было выявлено связи между повышением активности фермента и развитием альбуминурии. В работе Thraill K.M. и соавт. [27] активность MMP-2 у пациентов с СД1 достоверно коррелировала с наличием гиперfiltrации и МАУ. В исследовании [28] активность MMP-8 и MMP-14 была значимо выше у пациентов СД1 с ДН, чем у здоровых людей из группы контроля. Кроме того, в экспериментальных исследованиях у мышей с индуцированным СД увеличение содержания в моче активной изоформы MMP-9 и комплекса MMP-9 с NGAL предшествовало развитию альбуминурии [26].

3. Подоциты и маркеры повреждения подоцитов

Подоциты (podocytes) (или висцеральные эпителиальные клетки) — ключевые структурные элементы гломерулярного фильтра, являются третьим внешним слоем клубочкового капилляра. Подоциты выполняют

несколько важных функций: обеспечивают синтез некоторых белков БМК, регулируют растяжимость клубочкового капилляра и ограничивают прохождение отрицательно заряженных белков через щелевую диафрагму. Развитие подоцитии рассматривается в качестве маркера повреждения почечного фильтра.

По данным исследований [21, 29], подоцития выявлялась у пациентов с СД1 и СД2 как на стадии МАУ, так и при макроальбуминурии, по сравнению с отсутствием этого феномена в нескольких контрольных группах: у здоровых людей, у больных СД2 с НАУ и у пациентов с недиабетической почечной патологией, что указывает на достаточно высокую специфичность данного маркера именно для ДН. Было выявлено, что частота выявления подоцитии возрастала по мере прогрессирования ДН: так, на стадии МАУ подоцития определялась в 50% случаев, а на стадии протеинурии — у 80% пациентов. Лечение иАПФ приводило к значимому снижению не только уровня альбуминурии, но и подоцитии [21].

Shuchita Sharma и соавт. были представлены результаты небольшого пилотного исследования, которые позиционировались авторами как возможность более раннего выявления ДН при помощи исследования подоцитии по сравнению с оценкой МАУ. В исследование были включены 12 пациентов с СД1, из них 9 — с НАУ, 2 — с МАУ и 1 — с макроальбуминурией, группу контроля составили 9 здоровых субъектов. В группе контроля подоцития не выявлялась ни у одного пациента, в то время как у пациентов с СД подоцития обнаруживалась еще до развития повышенной экскреции альбумина — при НАУ, и возрастала у пациентов с МАУ и макроальбуминурией. Однако количественные показатели подоцитии не коррелировали с уровнем альбуминурии [29].

Маркеры повреждения подоцитов

Нефрин (nephrin) является одним из основных специфических белков подоцитов, который образует фильтрационные щели. В норме экскреция нефрина с мочой отсутствует.

Granier и соавт. [21] обнаружили наличие нефрина в моче пациентов с СД1 — у 30% пациентов с НАУ, у 17% больных на стадии МАУ (с ранее выявляемой альбуминурией), у 28% пациентов с впервые выявленной МАУ и у 28% — с макроальбуминурией. Таким образом, определение нефрина в моче у 30% пациентов до развития повышенной экскреции альбумина указывает на возможность использования данного белка в качестве раннего прогностического маркера ДН.

Миндин (Mincin). Murakoshi M. и соавт. [30] в эксперименте на мышах с индуцированным СД2 изучали другой специфический для подоцитов белок — миндин. Уровень миндина в моче мышей с СД2 был выше, чем в здоровой группе контроля. Также была выявлена прямая корреляция экскреции миндина с соотношением альбумин/креатинин. На основании полученных результатов авторы работы сделали предположение о возможности использования экскреции миндина для диагностики ДН.

Таким образом, исследования подоцитии и специфических белков подоцитов представляются перспективными в доклинической диагностике ДН, однако возможность использования данных маркеров в качестве предикторов ДН у пациентов с СД1 требует дальнейших исследований на больших группах пациентов.

4. Факторы роста

Трансформирующий фактор роста-β (TGF-β, transforming growth factor-beta). В настоящее время TGF-β рассматривается в качестве одного из ключевых медиаторов повреждения почек. В некоторых исследованиях выявлено повышение экскреции TGF-β у пациентов с СД более чем в 2 раза по сравнению со здоровыми людьми из группы контроля [31].

Показано, что почки являются одним из основных мест продукции TGF-β, о чем свидетельствует повышение почечной экспрессии гена TGF-β [2] и, одновременно, мишенью его действия. Выявлено увеличение экскреции TGF-β у больных СД1 с МАУ и макроальбуминурией, а также — высокий уровень активной формы TGF-β в сыворотке крови [31]. В ряде российских работ показана важность определения экскреции TGF-β для оценки течения и прогноза ХГН [32, 33].

Фактор роста соединительной ткани (CTGF, connective tissue growth factor). Фиброгенное действие TGF-β при ДН в значительной мере обусловлено способностью TGF-β индуцировать синтез CTGF — другого стимулятора продукции межклеточного матрикса. Обнаружено, что у пациентов с СД1 и ДН увеличение содержания CTGF в плазме крови коррелирует со снижением СКФ и является предиктором развития уремии [34].

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF, vascular endothelial growth factor). В последние годы большое значение в развитии сосудистых осложнений СД, в том числе ДН, придается VEGF. Большинство авторов рассматривают его в качестве одного из ключевых факторов повреждения почек, поскольку VEGF способствует повышению проницаемости клубочковых капилляров, активации синтеза компонентов внеклеточного матрикса и пролиферации мезангиальных клеток [2].

Повышение продукции VEGF в почках при развитии нефропатии выявлено как в эксперименте у мышей [2], так и в исследованиях у больных СД с ДН [34, 36]. Российскими учеными предложено использовать определение мочевого экскреции VEGF для оценки течения и прогноза ХГН [35]. Это согласуется с данными об увеличении мочевого экскреции VEGF у больных СД с протеинурией [34]. Содержание VEGF в моче больных СД1 коррелирует с объемом мезангия клубочков [36]. Выявлен нефропротективный эффект терапии ингибиторами VEGF у мышей с СД [2].

Инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1, insulin like growth factor-1). В ряде работ выявлено повышение экскреции у больных СД1 с ДН по сравнению с пациентами с СД без ДН и здоровой группой контроля [36, 37].

5. Иммуновоспалительные факторы

В последние годы показана важная роль иммуновоспалительных реакций в развитии ДН. Это дало мощный толчок для нового направления в изучении патогенеза, а также разработки методов ранней диагностики ДН. Данные исследований указывают на тесную связь уровня провоспалительных цитокинов в крови и моче с выраженностью изменений в почках у пациентов с СД.

Молекулы межклеточной адгезии (ICAM-1, Inter-cellular Adhesion Molecule 1). Был зафиксирован факт повышенной экспрессии ICAM-1 в канальцах и клубочках почек у больных СД1 с доклиническими стадиями ДН [38].

Выявлено, что повышенный уровень ICAM-1 в плазме крови может служить предиктором развития и прогрессирования ДН у пациентов с СД1 [39].

Цитокины (cytokines) представляют собой медиаторы межклеточного взаимодействия, которые формируют сеть коммуникационных сигналов между клетками иммунной системы и клетками других органов и тканей. К ним относятся различные типы **интерлейкинов (IL, interleukins)**.

Установлено, что у больных СД1, начиная со стадии МАУ, повышается экскреция IL-1β [40]. В крупном проспективном исследовании развития МАУ при СД1 (First Joslin Study of the Natural History of Microalbuminuria in Type 1 Diabetes) [41] показано, что мочевого экскреция IL-8 выше у тех больных СД1 с НАУ и МАУ, у которых в дальнейшем снижается функция почек. Риск раннего снижения СКФ у пациентов с повышением экскреции двух или более воспалительных медиаторов оказался в 5 раз выше, чем при нормальном уровне их экскреции.

Хемокины (Chemokines)

Моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1) — наиболее известный из хемокинов. Почечная экспрессия MCP-1 при СД повышена. Выявлено, что больные СД1 с МАУ имеют более высокое содержание MCP-1 в плазме крови по сравнению со здоровыми лицами и пациентами с НАУ [42]. Как показали исследования, мочевого экскреция данного цитокина у больных СД1 повышается даже при нормальной экскреции альбумина с мочой и возрастает по мере увеличения уровня альбуминурии [42, 43].

RANTES (regulated upon activation, normal T-cell expressed and secreted) — хемокин, выделяемый при активации Т-клетками. Является хемоаттрактантом для моноцитов и Т-клеток CD4+/CD45RO+. Установлено, что, начиная со стадии МАУ, у больных СД1 повышается экскреция RANTES [40].

Другие маркеры

Ванин 1 (Vanin-1) — фермент, катализирующий гидролиз пантетина до пантотеновой кислоты и цистиамин. В исследовании 2011 г. на экспериментальной модели СД у крыс было выявлено повышение экскреции фермента при развитии ДН, причем были найдены достоверные различия в зависимости от стадии ДН — прогрессивное увеличение уровня фермента в моче от стадии МАУ к

макроальбуминурии [44]. На основании результатов работы, ученые предложили использовать ванин-1 в качестве маркера прогрессирования ДН.

Протеомный анализ (proteomic analysis)

Под протеомным анализом понимают изучение содержания белков какого-либо органического вещества. Установлено, что исследование белкового спектра мочи пациентов с СД может использоваться с целью достаточно точной оценки прогноза развития диабетической патологии почек. В настоящее время планируется создать единую базу полученных в результате протеомного анализа мочевых биомаркеров, использование которой упростит диагностику ДН [45].

В ряде работ показано, что мочевой протеомный анализ позволяет выявлять маркеры, специфичные для ДН. Так, Rossing K. и соавт. [46] в исследовании, включившем 305 человек, установили, что белковый спектр мочи у пациентов с СД отличается от здоровых людей на 40 белков. Чувствительность и специфичность теста составили 89% и 91% соответственно. При этом группы пациентов СД с НАУ и ДН отличались по 102 мочевым маркерам, с 97% чувствительностью и специфичностью. Большинство из этих белков было представлено фрагментами коллагена I типа.

Также посредством протеомного анализа авторам работы удалось дифференцировать пациентов с хронической болезнью почек от когорты здоровых людей (с 98,7% чувствительностью и 100% специфичностью), а недиабетическую почечную патологию от ДН (с 81% чувствительностью и 91% специфичностью). Выявленные различия протеомных маркеров позволили прогнозировать развитие в течение трех лет выраженных стадий ДН у пациентов с МАУ. Более того, авторами работы

установлено, что на основании анализа спектра мочевых белков можно прогнозировать развитие ДН в среднем за $4,1 \pm 1,4$ года до выявления МАУ.

Согласно результатам Rossing P. [17], представленным 29 сентября 2010 г. в Стокгольме на конгрессе Европейской ассоциации по изучению диабета, протеомный анализ является высокоспецифичным методом, позволяющим не только диагностировать ДН на ранней (доклинической) стадии, но и прогнозировать развитие диабетической патологии почек. Можно предполагать, что за протеомным анализом — «будущее» доклинической диагностики ДН.

Заключение

Доклиническая диагностика ДН, а значит, возможность назначения патогенетической терапии и замедления прогрессирования патологии почек является чрезвычайно актуальной проблемой. Во всем мире ведется поиск лабораторных маркеров, позволяющих выявлять ДН на самых ранних стадиях, когда изменения в почках потенциально обратимы. Поскольку маркеры, представленные в данном обзоре, определяются до развития альбуминурии и показывают достаточно тесную связь с последующим прогрессированием ДН и снижением СКФ, а методы исследования являются неинвазивными, их использование представляет большой интерес и несомненные перспективы в плане ранней доклинической диагностики этого тяжелого прогрессирующего осложнения.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с рукописью.

Литература

- Шестакова МВ. Современное понятие «хроническая болезнь почек»: методы диагностики, клиническое значение. Сахарный диабет. 2008;(2):4–7.
- Дедов ИИ, Шестакова МВ. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек. М: ООО «Медицинское информационное агентство»; 2009. 482 с.
- Шамхалова МШ, Курумова КО, Шестакова МВ. Факторы тубулоинтерстициального поражения почек при сахарном диабете. Сахарный диабет. 2009;(4):61–65.
- Nauta FL, Boertien WE, Bakker SJ, van Goor H, van Oeveren W, de Jong PE, Bilo H, Gansevoort RT. Glomerular and tubular damage markers are elevated in patients with diabetes. Diabetes Care. 2011 Apr;34(4):975–981. Epub 2011 Feb 9.
- Vaidya VS, Niewczas MA, Ficociello LH, Johnson AC, Collings FB, Warram JH, Krolewski AS, Bonventre JV. Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes is associated with lower levels of urinary tubular injury biomarkers, kidney injury molecule-1, and N-acetyl- β -D-glucosaminidase. Kidney Int. 2011 Feb;79(4):464–470. Epub 2010 Oct 27.
- Kern EF, Erhard P, Sun W, Genuth S, Weiss MF. Early Urinary Markers of Diabetic Kidney Disease: A Nested Case-Control Study From the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). Am J Kidney Dis. 2010 May;55(5):824–834.
- Mohammadi-Karakani A, Asgharzadeh-Haghighi S, Ghazi-Khansari M, Hosseini R. Determination of urinary enzymes as a marker of early renal damage in diabetic patients. J Clin Lab Anal. 2007;21(6):413–417.
- Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, Donato V, Fazio MR, Nicocia G, Buemi M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as an early biomarker of nephropathy in diabetic patients. Kidney Blood Press Res. 2009;32(2):91–98. Epub 2009 Mar 24.
- Thraill KM, Moreau CS, Cockrell GE, Jo CH, Bunn RC, Morales-Pozzo AE, Lumpkin CK, Fowlkes JL. Disease and gender-specific dysregulation of NGAL and MMP-9 in type 1 diabetes mellitus. Endocrine. 2010 Apr;37(2):336–343. Epub 2010 Jan 12.
- Kuwabara T, Mori K, Mukoyama M, Kasahara M, Yokoi H, Saito Y, Yoshioka T, Ogawa Y, Imamaki H, Kusakabe T, Ebihara K, Omata M, Satoh N, Sugawara A, Barasch J, Nakao K. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels reflect damage to glomeruli, proximal tubules, and distal nephrons. Kidney Int. 2009 Feb;75(3):285–294. Epub 2008 Oct 1.
- Waanders F, van Timmeren MM, Stegeman CA, Bakker SJ, van Goor H. Kidney injury molecule-1 in renal disease. J Pathol. 2010 Jan;220(1):7–16.
- Yokoyama T, Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Hoshino S, Yasuda T, Kimura K. Urinary excretion of liver type fatty acid binding

- protein accurately reflects the degree of tubulointerstitial damage. *Am J Pathol.* 2009 Jun;174(6):2096–2106. Epub 2009 May 12.
13. Sasaki H, Kamijo-Ikemoni A, Sugaya T, Yamashita K, Yokoyama T, Koike J, Sato T, Yasuda T, Kimura K. Urinary fatty acids and liver-type fatty acid binding protein in diabetic nephropathy. *Nephron Clin Pract.* 2009;112(3):148–156. Epub 2009 Apr 24.
 14. Rampoldi L, Scolari F, Amoroso A, Ghiggeri G, Devuyst O. The rediscovery of uromodulin (Tamm-Horsfall protein): from tubulointerstitial nephropathy to chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2011 Aug;80(4):338–347. doi: 10.1038/ki.2011.134. Epub 2011 Jun 8.
 15. Fathy MA, Elkady MM, Fathy HA, Awad SA, Elmenshawy AA. Estimation of Renal Tubular Markers for Predicting Early Stage Diabetic Nephropathy in Egyptian Children with Type I Diabetes Mellitus. *Research Journal of Medicine and Medical Sciences.* 2009;4(2):207–211.
 16. Бондарь ИА, Климонтов ВВ. Ранние маркеры диабетической нефропатии. *Клиническая нефрология.* 2010;(2):60–65.
 17. Rossing P. Urinary Proteome Analysis Promises Earlier Diagnosis of Diabetic Nephropathy. *European Association for the Study of Diabetes (EASD) 46th Annual Meeting.* 2010; Poster abstract 1216.
 18. Sthaneshwar P, Chan SP. Urinary type IV collagen levels in diabetes mellitus. *Malays J Pathol.* 2010 Jun;32(1):43–74.
 19. Morita M, Uchigata Y, Hanai K, Ogawa Y, Iwamoto Y. Association of Urinary Type IV Collagen With GFR Decline in Young Patients With Type 1 Diabetes. *Am J Kidney Dis.* 2011 Dec;58(6):915–920. Epub 2011 Jul 16.
 20. Cawood TJ, Bashir M, Brady J, Murray B, Murray PT, O'Shea D. Urinary collagen IV and α GST: potential biomarkers for detecting localized kidney injury in diabetes—a pilot study. *Am J Nephrol.* 2010;32(3):219–225. Epub 2010 Jul 20.
 21. Granier C, Makni K, Molina L, Jardin-Watelet B, Ayadi H, Jarraia F. Gene and protein markers of diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 2008 Mar;23(3):792–799. Epub 2007 Dec 8.
 22. Popławska-Kita A, Mierzejewska-Iwanowska B, Szlachowska M, Siewko K, Nikołajuk A, Kinalska I, Górka M. Glycosaminoglycans urinary excretion as a marker of the early stages of diabetic nephropathy and the disease progression. *Diabetes Metab Res Rev.* 2008 May–Jun;24(4):310–317.
 23. Abe H, Matsubara T, Arai H, Doi T. Role of Smad1 in diabetic nephropathy: Molecular mechanisms and implications as a diagnostic marker. *Histol Histopathol.* 2011 Apr;26(4):531–541.
 24. Chen H, Zheng Z, Li R, Lu J, Bao Y, Ying X, Zeng R, Jia W. Urinary pigment epithelium-derived factor as a marker of diabetic nephropathy. *Am J Nephrol.* 2010;32(1):47–56. Epub 2010 Jun 3.
 25. Ли ОА, Бобкова ИН, Козловская ЛВ. Клиническое значение определения матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в моче больных хроническим гломерулонефритом. *Терапевтический архив.* 2009;(8):10–14.
 26. McKittrick IB, Bogaert Y, Nadeau K, Snell-Bergeon J, Hull A, Jiang T, Wang X, Levi M, Moulton KS. Urinary matrix metalloproteinase activities: biomarkers for plaque angiogenesis and nephropathy in diabetes. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2011 Dec;301(6):F1326–1333. Epub 2011 Sep 14.
 27. Thrall KM, Bunn RC, Moreau CS, Cockrell GE, Simpson PM, Coleman HN, Frindik JP, Kemp SF, Fowlkes JL. Matrix metalloproteinase-2 dysregulation in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2007 Sep;30(9):2321–2326. Epub 2007 Jun 11.
 28. Lauhio A, Sorsa T, Srinivas R, Stenman M, Tervahartiala T, Stenman UH, Grönhagen-Riska C, Honkanen E. Urinary matrix metalloproteinase -8, -9, -14 and their regulators (TRY-1, TRY-2, TATI) in patients with diabetic nephropathy. *Ann Med.* 2008;40(4):312–320.
 29. Shuchita Sh. Urinary Excretion of Podocytes as an Early Marker of Diabetic Nephropathy. *Spring Clinical Meetings of the National Kidney Foundation.* 2010; Abstract 103.
 30. Murakoshi M, Tanimoto M, Gohda T, Hagiwara S, Takagi M, Horikoshi S, Tomino Y. Mindin: a novel marker for podocyte injury in diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 2011 Jul;26(7):2153–2160. Epub 2010 Nov 22.
 31. Бондарь ИА, Климонтов ВВ, Надеев АП. Повышенная экскреция трансформирующего фактора роста- β с мочой – ранний маркер нефропатии у больных сахарным диабетом 1 типа. *Сахарный диабет.* 2007;(2):14–18.
 32. Чеботарева НВ, Бобкова ИН, Козловская ЛВ, Варшавский ВА, Голицына ЕП. Определение экскреции с мочой моноцитарного хемотаксического протеина-1 (MCP-1) и трансформирующего фактора роста- β 1 (TGF- β 1) у больных ХГН как метод оценки процессов фиброгенеза в почке. *Клиническая нефрология.* 2010;(3):51–55.
 33. Бобкова ИН, Чеботарева НВ, Козловская ЛВ, Варшавский ВА, Голицына ЕП. Определение экскреции с мочой моноцитарного хемотаксического протеина-1 (MCP-1) и трансформирующего фактора роста- β 1 (TGF- β 1) – неинвазивный метод оценки тубулоинтерстициального фиброза при хроническом гломерулонефрите. *Нефрология.* 2006;10(4):49–55.
 34. Baelde HJ, Eikmans M, Lappin DW, Doran PP, Hohenadel D, Brinkkoetter PT, van der Woude FJ, Waldherr R, Rabelink TJ, de Heer E, Buijn JA. Reduction of VEGF-A and CTGF expression in diabetic nephropathy is associated with podocyte loss. *Kidney Int.* 2007 Apr;71(7):637–645. Epub 2007 Jan 31.
 35. Бобкова ИН, Козловская ЛВ, Рамеева АС, Варшавский ВА, Голицына ЕП. Клиническое значение определения в моче маркеров эндотелиальной дисфункции и факторов ангиогенеза в оценке тубулоинтерстициального фиброза при хроническом гломерулонефрите. *Терапевтический архив.* 2007;79(6):10–16.
 36. Бондарь ИА, Климонтов ВВ. Экскреция инсулиноподобного фактора роста-1 и фактора роста эндотелия сосудов с мочой у больных сахарным диабетом 1 типа с нефропатией. *Проблемы эндокринологии.* 2007;53(6):3–7.
 37. Ушакова ЮВ. Ранняя диагностика диабетического поражения почек у детей. Оренбург: ГОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию». 2010;27 с. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.
 38. Бондарь ИА, Климонтов ВВ, Надеев АП. Сывороточный уровень и почечная экспрессия молекул межклеточной адгезии ICAM-1 у больных с диабетической нефропатией. *Сахарный диабет.* 2007;(3):18–23.
 39. Hara T, Ishida T, Cangara HM, Hirata K. Endothelial cell-selective adhesion molecule regulates albuminuria in diabetic nephropathy. *Microvasc Res.* 2009 May;77(3):348–355. Epub 2009 Jan 24.
 40. Бондарь И.А., Климонтов В.В., Надеев А.П. Мочевая экскреция провоспалительных цитокинов и трансформирующего фактора роста-Р на ранних стадиях диабетической нефропатии // *Терапевтический архив* – 2008. – Т.80, №1. – С. 52–56.
 41. Ficociello LH, Perkins BA, Roshan B, Weinberg JM, Aschengrau A, Warram JH, Krolewski AS. Renal Hyperfiltration and the Development of Microalbuminuria in Type 1 Diabetes. *Diabetes Care.* 2009 May;32(5):889–893. Epub 2009 Feb 5.

42. Tam FW, Riser BL, Meeran K, Rambow J, Pusey CD, Frankel AH. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and connective tissue growth factor (CCN2) as prognostic markers for progression of diabetic nephropathy. *Cytokine*. 2009 Jul;47(1):37–42. Epub 2009 May 5.
43. Wu CC, Chen JS, Lu KC, Chen CC, Lin SH, Chu P, Sytwu HK, Lin YF. Aberrant cytokines/chemokines production correlate with proteinuria in patients with overt diabetic nephropathy. *Clin Chim Acta*. 2010 May 2;411(9–10):700–704. Epub 2010 Feb 4.
44. Fugmann T, Borgia B, Révész C, Godó M, Forsblom C, Hamar P, Holthöfer H, Neri D, Roesli C. Proteomic identification of vanin-1 as a marker of kidney damage in a rat model of type 1 diabetic nephropathy. *Kidney Int*. 2011 Aug;80(3):272–281. doi: 10.1038/ki.2011.116. Epub 2011 May 4.
45. Thongboonkerd V. Study of diabetic nephropathy in the proteomic era. *Contrib Nephrol*. 2011;170:172–183. Epub 2011 Jun 9.
46. Rossing K, Mischak H, Rossing P, Schanstra JP, Wiseman A, Maahs DM. The urinary proteome in diabetes and diabetes-associated complications: new ways to assess disease progression and evaluate therapy. *Proteomics Clin Appl*. 2008 Jul;2(7–8):997–1007. doi: 10.1002/prca.200780166. Epub 2008 Jul 10.

Лебедева Надежда Олеговна

ординатор, ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва

E-mail: nadegda.lebedeva@yandex.ru

Викулова Ольга Константиновна

к.м.н., в.н.с. отделения диабетической нефропатии и гемодиализа, ФГБУ Эндокринологический научный центр, Москва