

Факторы развития туболоинтерстициального повреждения почек у больных сахарным диабетом

Шамхалова М.Ш., Курумова К.О., Клефтортова И.И., Ситкин И.И., Ильин А.В., Арбузова М.И., Гончаров Н.П., Кация Г.В., Александров А.А., Кухаренко С.С., Шестакова М.В., Дедов И.И.

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

Цель. Определить профиброгенные медиаторы, маркеры эндотелиальной дисфункции и гемостаза у больных сахарным диабетом (СД) и хронической болезнью почек (ХБП).

Материалы и методы. В исследование было включено 120 больных СД и 20 нормотензивных, сопоставимых по возрасту лиц без СД со скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) >60 мл/мин/1,73 м². Были выделены 4 группы больных СД: 1 — больные СД 2 типа (СД2) без почечной патологии (n=33); 2 — больные СД2 с диабетической нефропатией (ДН) (n=24); 3 — больные СД2 с ишемической нефропатией (ИН) (n=33), верифицированной контрастными исследованиями (мультиспиральная компьютерная томография брюшной аорты и почечных артерий или брюшная ангиография с визуализацией почечных артерий или магнитно-резонансная ангиография почечных артерий и брюшной аорты); 4 — больные СД 1 типа (СД1) с ДН (n=30). Клиническое обследование включало оценку жалоб, сбор анамнеза основного заболевания и сопутствующей патологии, определение основных клинических и биохимических параметров крови и мочи, исследование уровня гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) и суточной альбуминурии (АУ) по стандартным методикам, СКФ с использованием формулы MDRD, ЭКГ, эхокардиографическое исследование, суточное мониторирование артериального давления (АД), консультации кардиолога, офтальмолога (офтальмоскопия глазного дна). Определение основных факторов фиброза и эндотелиальной дисфункции: трансформирующий фактор роста-β (TGF-β), ангиотензин II (АТ II), моноцитарный хемоаттрактантный протеин (MCP-1), регулятор активности нормальной экспрессии и секреции Т-клеток (RANTES), факторы адгезии (внутриклеточная молекула адгезии (ICAM-1), молекула адгезии сосудистых клеток (VCAM-1)), эндотелиальный сосудистый фактор роста (VEGF), интерлейкин-6 (IL-6), асимметричный диметиларгинин (ADMA), гомоцистеин (HCYST), металлопротеиназы (MMP), фактор Виллебранда (FW), ингибитор активатора плазминогена (PAI-1) — проводилось с помощью стандартных наборов.

Результаты. У больных СД с ХБП при сравнении с лицами с СД2 без почечной патологии и контрольной группой выявлен повышенный уровень профиброгенных цитокинов (MCP-1, TGF-β1 и IL-6), а также фактора деградации внеклеточного матрикса (MMP-9) в крови, независимо от типа диабета и причины нефропатии, свидетельствующий об их участии в поражении почек, в основном за счет универсального механизма формирования тубулоинтерстициального фиброза. Активация профиброгенных цитокинов у больных СД с патологией почек тесно ассоциирована с эндотелиальной дисфункцией, определяемой повышенной продукцией в крови адгезивных, ангиогенных, тромбогенных факторов (FW, PAI, VCAM, sICAM, VEGF), а также факторов повреждения эндотелия (ADMA, гомоцистеин). Медиаторы воспаления и фиброгенеза у больных СД и ХБП отрицательно коррелировали с СКФ и положительно — с АУ — основными маркерами почечной дисфункции. Факторами риска снижения фильтрационной функции почек у больных СД с ХБП являются гиперурикемия, TGF-β1, ADMA, MCP-1.

Заключение. Уровень профиброгенных цитокинов и факторов эндотелиальной дисфункции при различных вариантах поражения почек у больных СД отражает выраженность тубулоинтерстициального фиброза и может быть использован для определения ренального прогноза, а также служить основанием активизации мер вторичной профилактики почечной недостаточности.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая нефропатия, ишемическая нефропатия, тубулоинтерстициальный фиброз, эндотелиальная дисфункция, медиаторы воспаления и фиброза

Factors promoting development of renal tubulointerstitial lesions in patients with diabetes mellitus

Shamkhalova M.Sh., Kurumova K.O., Klefortova I.I., Sitkin I.I., Ilyin A.V., Arbutzova M.I., Goncharov N.P., Katsia G.V., Aleksandrov A.A., Kucharenko S.S., Shestakova M.V., Dedov I.I.
Endocrinological Research Centre, Moscow

Aim. To identify profibrogenic mediators, markers of endothelial dysfunction and hemostasis in patients with diabetes mellitus (DM) and chronic kidney disease (CKD).

Materials and methods. The study included 120 patients with DM and 20 age-matched normotensive subjects without DM showing the glomerular filtration rate (GFR) > 60 ml/min/1.73 m². Four groups of patients were distinguished: 1 — DM2 patients without renal pathology (n=33), 2 — DM2 patients with diabetic nephropathy (n=24), 3 — DM2 patients with ischemic nephropathy (IN) (n=33) verified by contrast visualization techniques (multispiral CM of abdominal aorta and renal arteries, abdominal angiography of renal arteries or MR angiography of renal arteries and abdominal aorta), 4 — DM1 patients with DN (n=30). Clinical examination included assessment of complaints, analysis of medical history of the main disease and concomitant disorders, determination of the main clinical and biochemical characteristics of blood and urine, measurement of HbA_{1c} and 24-hr albuminuria (AU) by standard methods, estimation of GFR by the MDRD formula, ECG, echocardiography, 24-hr AP monitoring, counseling by cardiologist and ophthalmologist (fundal examination by ophthalmoscopy). Standard kits were used to detect profibrogenic mediators and markers of endothelial dysfunction including transforming growth factor-beta (TGF-β), angiotensin II (AT II), monocyte chemoattractant protein (MCP-1), regulated on activation normal T cell expressed and secreted (RANTES), adhesion factors (intracellular adhesion molecule (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule (VCAM-1) vascular endothelial growth factor (VEGF), interleukin-6 (IL-6), asymmetric dimethylarginine (ADMA), homocysteine (HCYST), metalloproteinases (MMP), von Willebrand factor (vWF), plasminogen activator inhibitor (PAI-1).

Results. DM patients with CKD had elevated blood profibrogenic cytokine (MCP-1, TGF-β1, IL-6) and extracellular matrix degradation factor (MMP-9) levels compared with patients without CKD and healthy subjects. These changes were unrelated to the type of diabetes or the cause of nephropathy, which suggests their contribution to renal pathology through the universal mechanism of tubulointerstitial fibrosis. Activation of profibrogenic cytokines in DM patients with CKD was closely associated with endothelial dysfunction manifest as enhanced production of blood adhesive,

angiogenic, thrombogenic factors (FW, PAI, VICAM, sICAM, VEGF), and endothelium-affecting factors (ADMA, homocysteine). Mediators of inflammation and fibrogenesis in these patients negatively correlated with GFR and positively with AU, the main markers of renal dysfunction. Hyperuricemia, TGF-1b, ADMA, and MCP-1 are considered to be the risk factors of impaired renal filtration function.

Conclusion. The level of profibrogenic cytokines and endothelial dysfunction factors in DM patients with different renal lesions reflects severity of tubulointerstitial fibrosis. It may be used for the purpose of prognostication and substantiation of intensification of secondary prophylaxis of renal insufficiency.

Key words: diabetes mellitus, diabetic nephropathy, ischemic nephropathy, tubulointerstitial fibrosis, endothelial dysfunction, mediators of inflammation and fibrosis

Приоритетной задачей современной нефрологии является выяснение механизмов утраты функционирующей почечной ткани и замещения ее соединительной. Они определяют скорость снижения почечной фильтрации, связанную с выраженностью тубулоинтерстициального фиброза (ТИФ) независимо от первично гломерулярной или интерстициально-канальцевой природы почечной патологии. В развитии тубулоинтерстициального повреждения определена роль сложных процессов межклеточных взаимодействий, которые активизируются под влиянием иммунных и неиммунных факторов [1]. Спектр возможных факторов тубулоинтерстициального повреждения довольно широк: протеинурия, трансформирующий фактор роста-β (TGF-β), ангиотензин II (АТ II), моноцитарный хемоаттрактантный протеин (MCP-1), регулятор активности нормальной экспрессии и секреции Т-клеток (RANTES), факторы адгезии (внутриклеточная молекула адгезии (ICAM-1), молекула адгезии сосудистых клеток (VCAM-1)), эндотелиальный сосудистый фактор роста (VEGF), белки острой фазы (С-реактивный белок (СРБ), фибриноген), интерлейкин-6 (IL-6), асимметричный диметиларгенин (ADMA), гомоцистеин (HCYST), металлопротеиназы (ММР), фактор Виллебранда (FW), ингибитор активатора плазминогена (PAI-I) и др.

Все это делает чрезвычайно актуальным поиск маркеров ранней диагностики ТИФ и методов активного воздействия на них, что позволило бы предотвратить или отсрочить прогрессирование утраты почечной функции и обосновать нефропротектив-

ную стратегию, основу которой составит целенаправленное воздействие на медиаторы воспаления и фиброза.

Потенциальные механизмы тубулоинтерстициальных повреждений при первичной гломерулярной патологии (диабетическом гломерулосклерозе, гломерулонефрите) включают токсический эффект фильтрующихся белков плазмы, активацию эпителиальных клеток канальцев цитокинами, секретиремых в клубочках, снижение перитубулярного кровотока, приводящее к нарастающей ишемии тубулоинтерстиция, перегрузку функционирующих канальцев. В свою очередь прогрессирующий интерстициальный фиброз может повышать резистентность пре- и постгломерулярных артериол, что усугубляет внутриклубочковую гиперфильтрацию. Прогрессирующий канальцевый стеноз в рамках ТИФ определяет повышение внутриканальцевого давления, что в конечном итоге приводит к снижению скорости клубочковой фильтрации (СКФ), а их обструкция – к снижению числа функционирующих нефронов [2].

Цель работы – определить профиброгенные медиаторы, маркеры эндотелиальной дисфункции и гемостаза у больных сахарным диабетом (СД) и хронической болезнью почек (ХБП).

Материалы и методы

В исследование было включено 120 больных СД и 20 нормотензивных, сопоставимых по возрасту лиц без СД с СКФ >60 мл/мин/1,73 м². Были выделены 4 группы больных

Таблица 1

Характеристика обследованных больных с СД ME[25%;75%]

Показатели	СД2 без ХБП n=33 1 группа	СД2 с ДН n=24 2 группа	СД2 с ИН n=33 3 группа	СД1 с ДН n=30 4 группа
Возраст (лет)	61 [55;66]	60,6 [57;68]	66 [60;70]	32,5 [26;38]*
Пол (м/ж)	15/18	16/6	18/15	14/16
Длительность СД (лет)	9 [3,5;14]	10 [6,17]*	14 [10;20]* •	13 [9;18]*
Длительность АГ (лет)	7 [4;14]	9 [7;20]*	17 [12;25]** •	3 [2;6]* •
Креатинин (мкмоль/л)	83 [74;96]	93 [76;110]	90 [76;116]	87 [74;103]
СКФ (мл/мин/1,73 м ²)	75 [64;87]	75 [58;93]	67 [53;85]*	76 [66;109]
Альбуминурия (мг/сут)	5,2 [3,1;9] •	65 [34;77]**	20 [3,3;107]* •	74,2 [44;218]**
HbA _{1c} (%)	8,1 [7;9,3]	7,9 [6,9; 9,5]	8,1 [7,1;8,9]	9,2 [7,4;9,2]*
ИМЛЖ (г/м ²)	102 [79;113]	171 [114;174]***	117 [104;134]*	77,5[70;101]*
ФВ (%)	57 [54;60]	54 [47;60]*	53 [48;58]*	60 [58;63]*
МЖП (мм)	12,5 [11,2;13,5]	13,2 [13;14]	13 [12;13]	10,7 [9,2;11,4]*
ДР (%)	24	79*** †	55* •	64**
Прием ИАПФ или БРА (%)	61	83*	73*	90** •
Прием статинов (%)	36	54	61* •	30††
Прием антиагрегантов (%)	42	58	67*	17** • • ††
ИБС (%)	27	36	62** •	0
Инфаркт миокарда в анамнезе (%)	18	36*	46*	0
Курение (%)	30	33	49*	24

*p<0,05, **p<0,001 при сравнении с 1 группой; • p<0,05, •• p<0,001 при сравнении с 2 группой; † p<0,05, †† p<0,001 при сравнении с 3 группой.

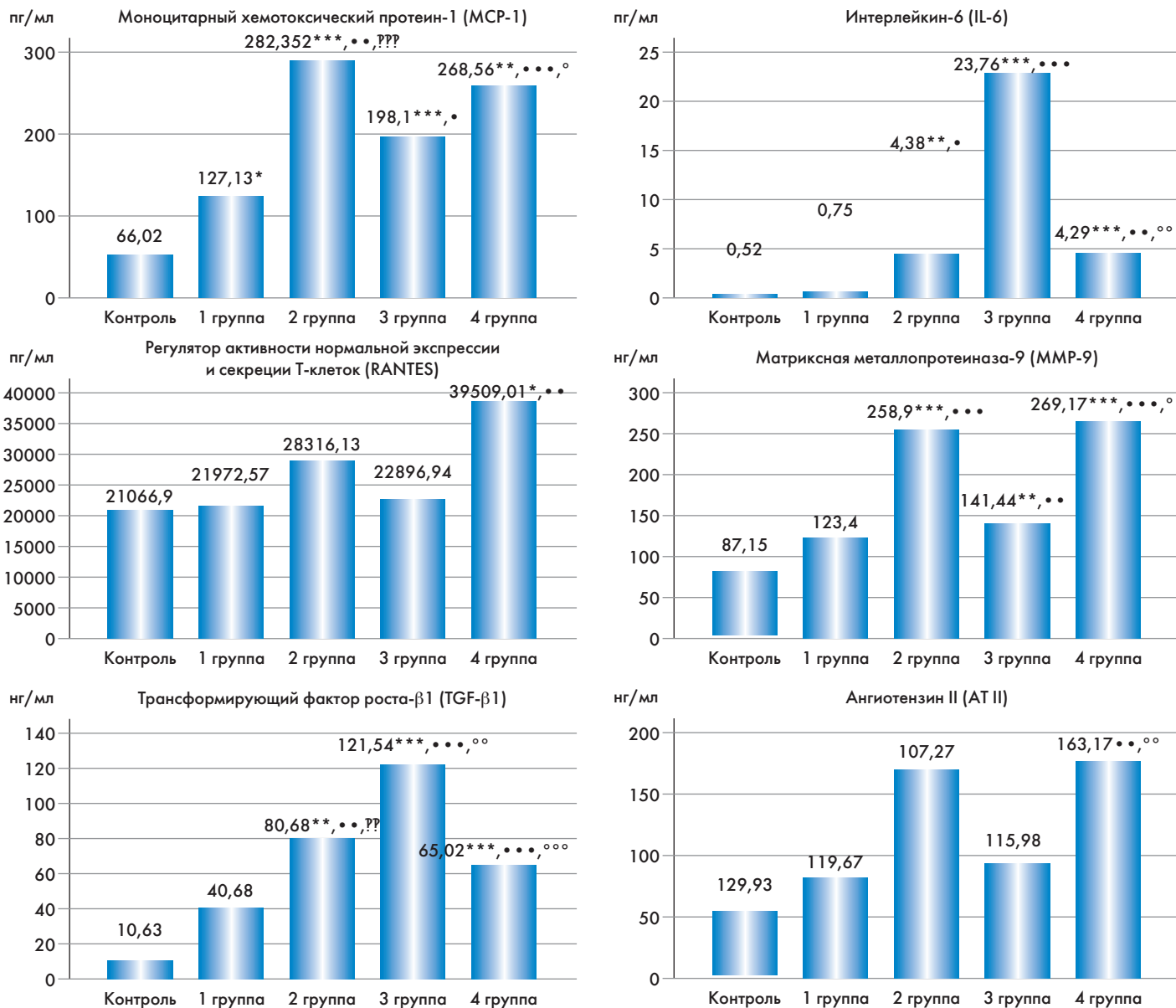


Рис. 1. Уровни профиброгенных медиаторов у обследованных групп
 * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ – при сравнении с группой контроля; * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$ – при сравнении с 1 группой;
 ° $p \leq 0,05$, °° $p \leq 0,01$, °°° $p \leq 0,001$ – при сравнении со 2 группой; ??? $p \leq 0,01$ – при сравнении с 3 группой.

СД: 1 – больные СД 2 типа (СД2) без почечной патологии (n=33); 2 – больные СД2 с диабетической нефропатией (ДН) (n=24); 3 – больные СД2 с ишемической нефропатией (ИН) (n=33), верифицированной контрастными исследованиями; 4 – больные СД 1 типа (СД1) с ДН (n=30). Клиническое обследование включало оценку жалоб, сбор анамнеза основного заболевания и сопутствующей патологии, оценку антропометрических показателей (рост, вес, индекс массы тела (ИМТ)), ЧСС, ЭКГ, определение основных клинических и биохимических параметров крови и мочи, исследование уровня гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) и суточной альбуминурии (АУ) по стандартным методикам, СКФ с использованием формулы MDRD, эхокардиографическое исследование, суточное мониторирование артериального давления (АД), консультации кардиолога, офтальмолога (офтальмоскопия глазного дна).

Концентрация АТ II в плазме крови определялась методом иммуноферментного анализа (ИФА) для определения пептида с экстракцией (Peninsula Laboratories, San Carlos, США). Определение основных факторов фиброза и эндотелиальной дисфункции проводилось с помощью стандартных наборов фирм:

Technozym – PAI-1, FW; Bender Med Systems – IL-6, VCAM, sICAM, TGF-β, MCP-1; Immundiagnostik – ADMA; Invitrogen – RANTES; R&D Systems – MMP-9; Axis – HCYST; Biosource – VEGF методом ИФА. Фотометрию образцов проводили на фотометре Victor 2, Perkin Almer, Нидерланды.

Мультиспиральная компьютерная томография брюшной аорты и почечных артерий (МСКТ) была проведена 60 пациентам с СД2 на 16-спиральном компьютерном томографе Somatom Emotion 16 (Siemens, Германия). **Брюшная ангиография с визуализацией почечных артерий** была проведена 25 пациентам с СД2 на ангиокардиографической установке Axiom Artes Dfc (Siemens, Германия). **Магнитно-резонансная ангиография почечных артерий и брюшной аорты** была проведена 5 пациентам с СД2 со сниженным уровнем СКФ на томографе Magnetom Avanto (Siemens, Германия) с напряженностью поля 1,5 Тл.

Статистический анализ полученных данных проводился при использовании пакета прикладных программ Statistica (StatSoft Version 6.0, USA). Для описания распределения показателя определяли среднее значение, стандартную ошибку сред-

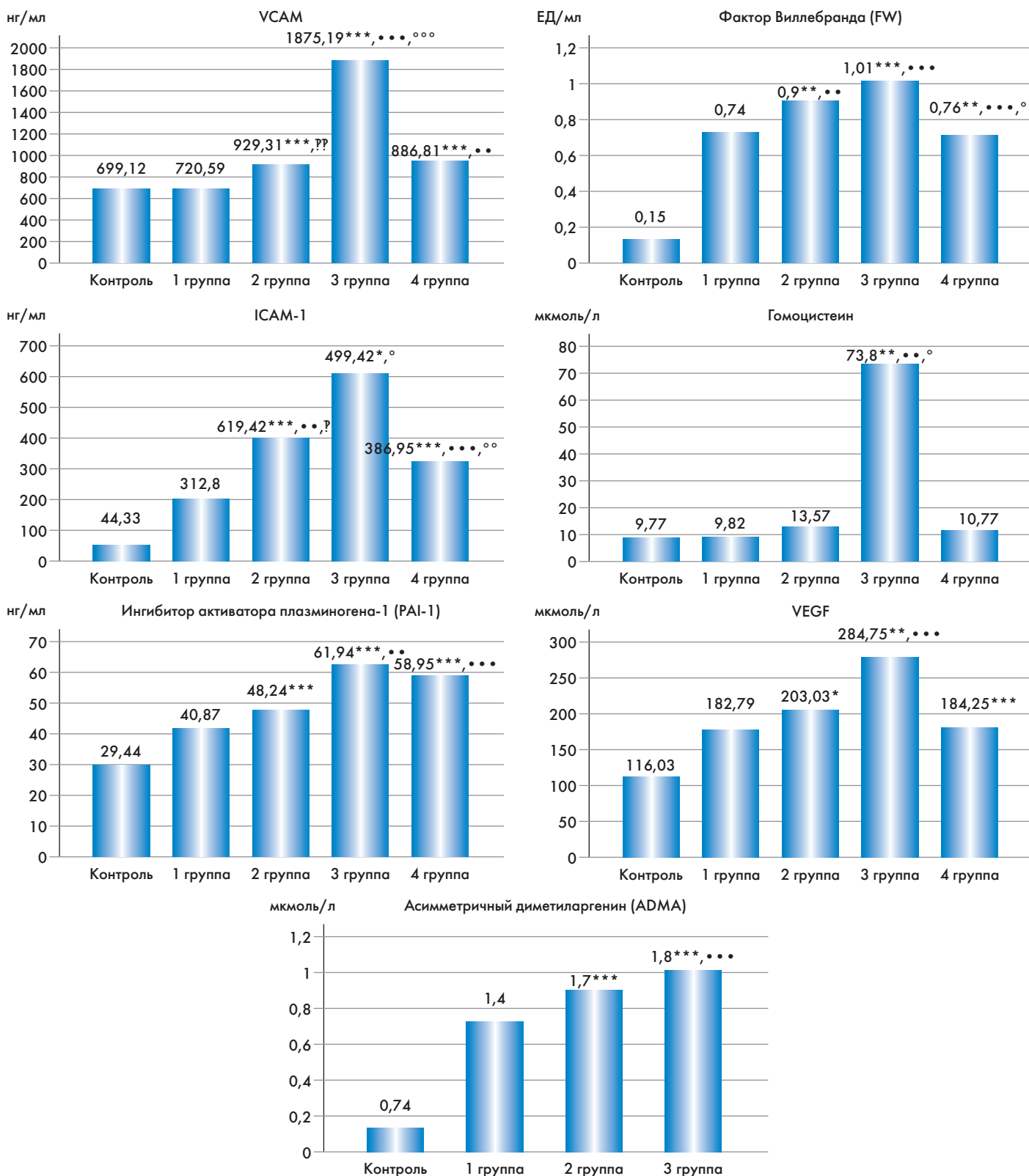


Рис. 2. Уровни факторов эндотелиальной дисфункции и гемостаза у обследованных групп
 *p≤0,05, **p≤0,01, ***p≤0,001 – при сравнении с группой контроля; •p≤0,05, ••p≤0,01, •••p≤0,001 – при сравнении с 1 группой; °p≤0,05, °°p≤0,01, °°°p≤0,001 – при сравнении со 2 группой; ??p≤0,01 – при сравнении с 3 группой.

ней и стандартное квадратичное отклонение, медиану, значения верхней и нижней квартили (Me [25%;75%]), критерий Манна-Уитни χ^2 для оценки статистической значимости различий между двумя независимыми группами. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена применялся для оценки линейной связи

между рангами значений двух количественных показателей. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Для определения факторов, влияющих на снижение СКФ, был использован логистический регрессионный анализ.

Таблица 2

Взаимосвязь АТ II с TGF-β1, MCP-1, IL-6			
Показатели	СД2 с ДН 2 группа	СД2 с ИН 3 группа	СД1 с ДН 4 группа
TGF-β1	r=0,42, p=0,05	r=0,30, p=0,001	r=0,29, p=0,01
MCP-1	r=0,28, p=0,005	r=0,52, p=0,01	r=0,65, p=0,008
IL-6	r=0,36, p=0,001	r=0,42, p=0,005	r=0,59, p=0,02

Таблица 3

Взаимосвязь PAI-1 с TGF-β1				
Показатели	СД2 без ХБП 1 группа	СД2 с ДН 2 группа	СД2 с ИН 3 группа	СД1 с ДН 4 группа
TGF-β1	r=0,63 p=0,0006	r=0,53 p=0,006	r=0,33 p=0,05	r=0,35 p=0,03

Результаты и их обсуждение

Клиническая характеристика обследованных больных СД представлена в таблице 1.

Все пациенты с СД2 были сопоставимы по возрасту. Пациенты с СД2 и ХБП имели большую длительность основного заболевания и АГ, особенно при ИН. Больные СД1 с ДН при сопоставимой длительности основного заболевания с больными СД2 с ДН и ИН демонстрировали относительную непродолжительность АГ, что отражает развитие последней при этом типе диабета именно в связи с поражением почек. АГ у лиц с СД2 может развиваться до клинических проявлений диабета, предшествовать патологии почек и в дальнейшем играть важную роль в развитии нефропатии любого генеза. Пациенты с СД1 с ДН имели наиболее высокий показатель HbA_{1c} , свидетельствующий о проблемах компенсации углеводного обмена в этой группе — ключевого фактора развития и прогрессирования ДН. Пациенты с СД2 преимущественно находились в состоянии субкомпенсации углеводного обмена, что также вносит вклад в индуцирование механизмов повреждения почек на уровне клетки (неферментное гликирование белков, окислительный стресс, активация протеинкиназы С, факторов роста, vasoактивных цитокинов и т.д.). Статистически значимые различия отмечались в частоте инфаркта миокарда (ИМ) в анамнезе у больных СД2 с ИН, свидетельствующей о тесном взаимоотношении дисфункции почек и коронарной патологии. Высокая частота применения ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (ИАПФ) и блокаторов рецепторов ангиотензина II (БРА) у больных СД2 независимо от наличия почечной патологии отражает необходимость использования базисной фармакологической группы антигипертензивных препаратов, обладающих нефро- и кардиопротективными свойствами наряду с воздействием на системную гемодинамику. Диабетическая ретинопатия (ДР) была обнаружена в 79% случаев у больных СД2 с ДН и в 67% — у больных СД1 с ДН, что подтверждает тесную взаимосвязь этих микрососудистых осложнений в рамках нефроретинального синдрома. Сравнение показателей почечной функции продемонстрировало снижение показателей СКФ по MDRD у пациентов с СД2 с ИН, по сравнению с 1 группой. Уровень АУ был выше во всех группах с поражением почек. Оценка кардиальной функции, по данным ЭХО-КГ, показала наиболее значимую гипертрофию левого желудочка (ЛЖ) у пациентов с СД2 и ДН, определенную по утолщению межжелудочковой перегородки (МЖП) и индексу миокарда ЛЖ (ИМЛЖ). В то же время сократительная функция миокарда, определенная по фракции выброса (ФВ), была статистически значимо снижена у пациентов с СД2 с ИН, что, по-видимому, связано с большей частотой ИМ в анамнезе и формированием постинфарктного кардиосклероза.

Таблица 4

Взаимосвязь FW с TGF-β1 и IL-6				
Показатели	СД2 без ХБП 1 группа	СД2 с ДН 2 группа	СД2 с ИН 3 группа	СД1 с ДН 4 группа
TGF-β1	r=0,60 p=0,001	r=0,70 p=0,0001	r=0,35 p=0,04	r=0,26 p=0,005
IL-6	r=0,44 p=0,002	r=0,59 p=0,002	r=0,46 p=0,005	r=0,54 p=0,05

Таблица 5

Взаимосвязь VEGF с TGF-β1 и MCP-1				
Показатели	СД2 без ХБП 1 группа	СД2 с ДН 2 группа	СД2 с ИН 3 группа	СД1 с ДН 4 группа
TGF-β1	r=0,004 p=0,9 нд	r=0,41 p=0,04	r=0,56 p=0,0006	r=0,27 p=0,07
MCP-1	r=0,51 p=0,002	r=0,51 p=0,01	r=0,32 p=0,04	r=0,28 p=0,008

Результаты исследования профиброгенных медиаторов у обследованных групп представлены на рисунке 1.

Важную роль в воспалительных реакциях в процессе развития ТИФ при СД отводят увеличению синтеза молекул адгезии и хемокинов. К последним относятся MCP-1 и RANTES. В нашей работе было получено статистически значимое повышение уровня MCP-1 в сыворотке крови у пациентов с СД с почечной патологией по сравнению с группой контроля и лицами с СД2 без ХБП. Наиболее значительное повышение изучаемого показателя отмечено у больных СД2 и СД1 с ДН. Следует отметить, что в группе больных СД2 без поражения почек уже зафиксирована значимая элевация MCP-1. Это согласуется с данными исследований, показавшими активное участие MCP-1 в механизмах развития инсулинорезистентности, ожирения, метаболического синдрома, атеросклероза, СД2, сердечно-сосудистой недостаточности [3, 4].

Содержание RANTES не зависело от наличия и характера поражения почек. Статистически значимое повышение было отмечено только у больных СД1 с ДН. В исследованиях была показана задействованность RANTES, коррелировавшая с уровнем HbA_{1c} , в повреждающих процессах не только в почечном интерстиции, но и в деструкции β-клеток при впервые выявленном СД1 [5]. В нашем исследовании также определилась довольно сильная корреляция изучаемого параметра с уровнем HbA_{1c} именно в группе больных СД1 с ДН ($r=0,41$; $p=0,03$). Вероятно, у этих пациентов высокий повреждающий потенциал RANTES проявляется в условиях декомпенсации углеводного обмена, индуцирующей наряду с неферментным гликированием белков, окислительным стрессом, действие цитокинов.

TGF-β1 — ключевой профиброгенный цитокин — был значимо повышен во всех группах больных СД с патологией почек по сравнению не только с контрольной, но и с 1 группой, что, по-видимому, свидетельствует об одной из ведущих ролей в развитии ТИФ независимо от типа диабета и вида нефропатии. Однако максимальное его повышение все же наблюдалось в группе больных СД2 с ИН.

IL-6 является одним из наиболее активных цитокинов, участвующих в воспалительной реакции. Определена его роль в механизмах инсулинорезистентности, развитии инсулита, апоптозе β-клеток, выраженности ТИФ у больных СД [6]. В нашей работе уровень IL-6 оказался значимо повышенным во всех группах больных СД с ХБП по сравнению с контролем и пациентами 1 группы. Однако, как и в случае с TGF-β1, его повышение было максимальным у больных СД2 с ИН, что согласуется с исследованиями, обсуждающими статус этого цитокина как биомаркера ишемии [7].

Таблица 6

Взаимосвязь СКФ с исследуемыми факторами			
Показатели	2 группа	3 группа	4 группа
TGF-β1	r=-0,32; p=0,004	r=-0,33; p=0,002	r=-0,39; p=0,03
MMP-9	r=-0,29; p=0,04	r=-0,28; p=0,0002	r=-0,55; p=0,001
RANTES	r=-0,32; p=0,0004	r=-0,37; p=0,01	r=-0,53; p=0,003
MCP-1	r=-0,29; p=0,01	r=-0,45; p=0,007	r=-0,47; p=0,008
IL-6	r=-0,50; p=0,05	r=-0,47; p=0,001;	r=-0,53; p=0,003
HCYST	r=-0,33; p=0,005	r=-0,47; p=0,01	r=-0,34; p=0,05

Центральную роль в склерозировании клубочков при СД отводят нарушению обмена компонентов внеклеточного матрикса и, прежде всего, коллагенов. Гипергликемия запускает каскад биохимических изменений в клубочках, канальцах и интерстиции почек, приводящих к активации синтеза коллагена. Наряду с этим в почках снижается активность коллагенолитических ферментов. В итоге происходит избыточная аккумуляция коллагена, которая становится ключевым звеном в развитии диабетического нефросклероза. В процессе деградации внеклеточного матрикса принимают участие две основные ферментные системы: матричные протеиназы и система активации плазминогена, регулируемые PAI-1.

В нашей работе, как и в раннее выполненных [8], было обнаружено статистически значимое повышение содержания MMP-9 у пациентов с СД с поражением почек, особенно выраженное у больных с ДН, в сравнении с группой контроля и пациентами 1 группы. В 1 группе была выявлена положительная корреляция MMP-9 с СКФ: r=0,44, p=0,009. Возможно, данная корреляция свидетельствует о том, что на доклинических стадиях ДН равновесие между активацией и деградацией матрикса еще не нарушено, хотя факторы, модифицирующие синтез MMP подоцитами, такие как TGF-β1, уже повышаются и на этом этапе. При этом следует отметить выявленные положительные корреляции MMP-9 и TGF-β1 у больных СД2 с ДН (r=0,48; p=0,02) и СД2 с ИН (r=0,48; p=0,001).

Обнаруженные новые свойства АТ II, наряду с известными гемодинамическими, позволяют рассматривать его в качестве многофункционального цитокиноподобного фактора просклеротического действия. Уровень исследуемого показателя во всех группах больных СД был сопоставим с группой контроля, что, вероятно, связано с широким применением у первых ИАПФ и БРА. Значимых корреляций АТ II с СКФ и АУ выявлено не было ни в одной из групп. Тем не менее были выявлены положительные корреляции АТ II с TGF-β1, MCP-1, IL-6 в группах больных СД с патологией почек (табл. 2), что подтверждает данные о его контролирующей функции в синтезе профиброгенных цитокинов [9].

Таким образом, у больных СД с ХБП при сравнении с лицами с СД2 без почечной патологии и контрольной группой выявлен повышенный уровень профиброгенных цитокинов (MCP-1, TGF-β1 и IL-6), а также фактора деградации внеклеточного матрикса (MMP-9) в крови независимо от типа диабета и причины нефропатии, что подтверждает участие этих молекулярных медиаторов в универсальном механизме ТИФ как основы прогрессирования почечной недостаточности.

Уязвимость клеток эндотелия для патогенных факторов системного кровотока определяется их уникальным положением на границе между циркулирующей кровью и тканями. Дисфункция эндотелия приводит к нарушению контроля сосудистого тонуса, тромбообразования, фибринолиза. Наибольшей диагностической значимостью обладают молекулы адгезии семейств селектинов и иммуноглобулинов. Маркерами активированного эндотелия, синтез которых в нормальных условиях практически не происходит, являются растворимые формы адгезивных молекул – VCAM-1 и sICAM-1. Наиболее вероятной причиной активации молекул

Таблица 7

Взаимосвязь АУ с исследуемыми факторами			
Показатели	2 группа	3 группа	4 группа
TGF-β1	r=0,49; p=0,04	r=0,66; p=0,008	r=0,75; p=0,02
MCP-1	r=0,39; p=0,02	r=0,30; p=0,008	r=0,39; p=0,03
RANTES	r=0,78; p=0,009	r=0,64; p=0,01	r=0,41; p=0,007
IL-6	r=0,28; p=0,03	r=0,33; p=0,007	r=0,42; p=0,02
MMP-9	r=0,48; p=0,007	r=0,32; p=0,003;	r=0,31; p=0,005
HCYST	r=0,32; p=0,007	r=0,55; p=0,001	r=0,29; p=0,007
FW	r=0,36; p=0,03	r=0,41; p=0,02	r=0,35; p=0,01

Таблица 8

Факторы, ассоциированные с прогрессированием ХБП у больных СД (логистическая регрессия)			
Показатель	OR	95% ДИ	p
Мочевая кислота (>420 мкмоль/л)	4,76	1,56-7,96	<0,001
TGF-β1	1,33	0,81-1,85	0,059
ADMA	2,70	0,93-4,47	0,047
MCP-1	5,26	2,16-8,36	<0,001

адгезии при СД является гипергликемия. Наряду с гипергликемией синтез молекул адгезии в мезангиоцитах запускается оксидативным стрессом, а также механическим напряжением в условиях внутриклубочковой гипертензии.

В нашем исследовании было обнаружено статистически значимое по сравнению с группой контроля и больными СД2 без ХБП повышение уровня VCAM-1 в группе больных СД с ренальной патологией (рис. 2). Однако наибольшее повышение было отмечено у больных СД2 с ИН. Уровень sICAM-1 также был повышен во всех группах больных с поражением почек по сравнению с группой контроля и больными 1 группы. Но в данном случае наибольшее повышение было у больных СД2 с ДН.

PAI-1 играет одну из главных ролей в развитии фиброза, являясь главным ингибитором активации фибринолиза. В норме экспрессия PAI-1 ничтожно мала, однако она резко возрастает при различных заболеваниях почек в случае активации и повреждения эндотелия, участвуя в развитии фиброза. Наше исследование подтвердило повышение уровня этого фактора эндотелиальной дисфункции у пациентов с СД и почечной патологией по сравнению с группой контроля и пациентами 1 группы.

В группах больных СД была определена положительная корреляция PAI-1 с важнейшим профиброгенным цитокином TGF-β1 (табл. 3), что может свидетельствовать о сопряженности процессов эндотелиальной дисфункции и фиброза, даже при отсутствии почечной патологии.

Активация и повреждение эндотелия различного генеза (воспалительное, диабетическое, атеросклеротическое) приводит к усиленному накоплению и выделению еще одного важного фактора – FW. Он также оказался повышенным у всех пациентов с СД и патологией почек. Ранее проведенные исследования продемонстрировали увеличение концентрации FW по мере нарастания и тяжести диабетического поражения почек и тяжелого повреждения эндотелия сосудов [10]. Роль FW в процессах иницирования ТИФ можно предположить по выявленным корреляционным связям фактора с TGF-β1 и IL-6 во всех группах больных СД (табл. 4).

Косвенную оценку состояния эндотелия дают исследования содержания факторов повреждения (гиперлипидемия, гипергомоцистеинемия, ADMA, цитокины и др.). Мы обнаружили статистически значимое повышение гомоцистеина только в группе с СД2 и ИН. ADMA был максимально повышен у пациентов

с СД2 и ИН (пациентам с СД1 уровень ADMA не определялся).

В ряду сигнальных молекул, определяющих патологические изменения в почках, важную роль играет VEGF — маркер ангиогенной формы дисфункции эндотелия. Анализ уровня VEGF показал его повышение у пациентов с СД и почечной дисфункцией по сравнению с контрольной группой, но в данном случае наиболее выраженное у больных СД2 с ИН. Закономерно в этих же группах определена значимая корреляция VEGF с важнейшими профиброгенными цитокинами — TGF- β 1 и MCP-1 (табл. 5).

Таким образом, повышение уровня профиброгенных цитокинов и эндотелиальная дисфункция у больных СД представляются тесно ассоциированными процессами взаимно индуцирующего характера, приводящие к повреждению тубулоинтерстиция — основы прогрессирования почечной патологии.

Вовлеченность медиаторов воспаления и фиброгенеза в процессы тубулоинтерстициального повреждения у больных СД и ХБП подтверждается их отрицательной корреляционной связью с СКФ и положительной — с АУ — основными маркерами почечной дисфункции (табл. 6 и 7).

В ходе проведенного анализа (логистическая регрессия) были выявлены факторы, вносящие наиболее весомый вклад в прогрессирование ХБП — снижение СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м² у больных с СД (табл. 8).

Полученные данные свидетельствуют о значимой роли гиперурикемии, TGF- β 1, ADMA и MCP-1 в снижении почечной функции. Гиперурикемия рассматривается как один из наиболее распространенных факторов риска прогрессирования ХБП, который несет ответственность не только за развитие нефросклероза, но и сердечно-сосудистых осложнений, определяя общий прогноз. С другой стороны, снижение фильтрационной функции почек при ХБП приводит к нарушению липидного, фосфорно-кальциевого и пуринового обмена, которые обладают прямым токсическим воздействием на почечные структуры и приводят к расстройству почечной гемодинамики. За счет активации почечной ренин-ангиотензиновой системы и циклооксигеназы-2, повышенного синтеза свободных радикалов, тромбосана и фактора пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, подавления активности оксида азота гиперурикемия играет значительную роль в патогенезе ХБП. Данные нашего исследования определяют необходимость коррекции этого метаболического фактора, даже при его небольшом повышении.

Роль TGF- β в прогрессировании почечной патологии многогранна, и включает в себя такие базовые патогенетические механизмы, как активацию процессов фиброгенеза, пролиферации, апоптоза, эпителиально-мезенхимальной трансдифференциации [11]. Современная модель участия TGF- β и его внутриклеточной сигнальной системы в развитии нефропатий открывает новые перспективы терапевтических подходов профилактики прогрессирования ХБП. В нашем исследовании был обнаружен повышенный уровень TGF- β 1, коррелирующий с СКФ во всех группах больных с почечной патологией, отражающий участие данного

фактора как основного игрока универсального механизма развития ТИФ независимо от типа диабета и природы почечного повреждения. В этой связи вполне ожидаемым результатом исследования оказалось определение TGF- β 1 в ряду факторов, ассоциированных с прогрессированием ХБП у больных СД.

Наше исследование продемонстрировало значимую ассоциацию ADMA и прогрессивного снижения фильтрационной функции почек у больных СД2. ADMA является самым важным эндогенным ингибитором NO и самым интригующим фактором риска сердечно-сосудистых осложнений и прогрессирования почечной патологии. Выявлено повышение ADMA во всех группах с поражением почек, однако максимальное его повышение наблюдалось в группе с ИН. Возможно, это не случайно, поскольку наиболее выраженная эндотелиальная дисфункция была выявлена у пациентов именно в этой группе. Повышение уровня ADMA у лиц с различной почечной патологией до развития хронической почечной недостаточности (ХПН) свидетельствует о значимом вкладе нарушения деградации ADMA под влиянием диметиларгенина диметиламиногидролазы (DDAH) наряду со снижением СКФ [12]. Развивающиеся склеротические процессы в почечной ткани, несомненно, ведут к нарушению продукции DDAH и, как следствие, повышению уровня ADMA в плазме крови. В любом случае эти механизмы вносят вклад в повышенный риск сердечно-сосудистых событий у больных с ХПН. Имеющиеся данные указывают на ADMA как на важный фактор прогрессирования почечной и сердечно-сосудистой патологии, который необходимо учитывать при выборе терапии: L-аргинин, препараты, повышающие активность DDAH — ИАПФ, БРА, сенситайзеры инсулина.

Особо следует отметить роль MCP-1, который, по данным исследования, более чем в 5 раз повышал риск снижения фильтрационной функции почек у больных СД. Вовлеченность MCP-1 в процессы ренального повреждения подтверждается его отрицательными корреляциями с СКФ во всех группах с поражением почек. Этот фактор является не только хемоаттрактантным протеином, задействованным в иммунновоспалительных процессах. Он непосредственно способен активировать резидентные почечные клетки. Это, в свою очередь, вызывает ответные воспалительные реакции с индуцированием цитокинов и экспрессией молекул адгезии в почках, что определяет новый аспект патогенетического механизма прогрессирования ХБП [13].

Таким образом, результаты нашего исследования свидетельствуют о высоком риске снижения СКФ у пациентов с СД и ХБП при повышении TGF- β 1, ADMA и MCP-1 в крови наряду с традиционными факторами риска. Оценка данных факторов у этой категории больных может быть использована для определения ренального прогноза, а также служить основанием применения средств, целенаправленно воздействующих на медиаторы воспаления и фиброза в комплексе мер вторичной профилактики почечной недостаточности.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований - грант 10-04-00646-а.

Литература

1. Шестакова М.В., Дедов И.И. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек. — Медицинское информационное агентство, 2009. — с. 2.
2. Kelly C.J., Neilson E.G. Tubulointerstitial diseases in Brenner and Rector's The Kidney 7-th ed, B.M. Brenner (ed). Philadelphia, Saunders, 2004. — P. 1483–1512.
3. Braunerseuther V., Mach F., Steffens S. The specific role of chemokines in atherosclerosis // *Thromb. Haemost.* — 2007. — 97(5). — P. 714–721.
4. Coll B., Alonso-Villaverde C., Joven J. Monocyte chemoattractant protein-1 and atherosclerosis: is there room for an additional biomarker? // *Clin. Chim. Acta.* — 2007. — 383(1-2). — P. 21–29.
5. Pflieger C., Hougaard P., Hansen L. et al. Relation of serum cytokine levels and chemokine levels with HbA_{1c}, C-peptide and proinsulin in patients with newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. Results from the Hvidovre Study Group // *Diabetologia.* — 2006. — 49(Suppl. 1). — P. 282.
6. Kristiansen O.P., Mandrup-Poulsen T. Interleukin-6 and Diabetes the good, the bad, or the indifferent? // *Diabetes.* — 2005. — (suppl.2). — P. S114–124.
7. Patel N.S., Chatterjee P.K., Di Paola R., Mazzone E. et al. Endogenous Interleukin-6 Enhances the Renal Injury, Dysfunction, and Inflammation Caused by Ischemia/Reperfusion // *JPET.* — 2005. — 312. — P. 1170–1178.
8. Rysz J., Banach M., Stolarek R.A., Pasnik J., Cialkowska-Rysz A., Koktyz R., Piechota M., Baj Z. Serum matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 and metalloproteinase tissue inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 in diabetic nephropathy // *J. Nephrol.* — 2007. — 20(4). — P. 444–452.
9. Fukagawa M., Noda M., Shimizu T., Kurokawa K. Chronic progressive interstitial fibrosis in renal disease—are there novel pharmacological approaches? // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 1999. — 14. — P. 2793–2795.

10. Шестакова М.В., Ярек-Мартынова И.Р., Иванишина Н.С. Карлиоренальный синдром при сахарном диабете 1 типа: роль дисфункции эндотелия // Кардиология. – 2005. – 6. – С. 35–41.
11. Böttinger E.P., Bitzer M. TGF- β signaling in renal disease // J. Am. Soc. Nephrol. – 2002. – 13. – P. 2600–2610.
12. Fliser D., Kielstein J.T., Haller H., Bode-Böger S.M. Asymmetric dimethylarginine: a cardiovascular risk factor in renal disease? // Kidney International. – 2003. – 63. – S37–S40.
13. Viedt C., Orth S.R. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in the kidney: does it more than simply attract monocytes? // Nephrol. Dial. Transplant. – 2002. – 17. – P. 2043–2047.

Шамхалова Минара Шамхаловна	д.м.н., зав. отделением диабетической нефропатии и гемодиализа, ФГУ Эндокринологический научный центр, Москва E-mail: shamkhalova@mail.ru
Курумова Ксения Олеговна	аспирант отделения диабетической нефропатии и гемодиализа, ФГУ Эндокринологический научный центр, Москва
Клефтортова Инна Игоревна	к.м.н., старший научный сотрудник отделения диабетической нефропатии и гемодиализа, ФГУ Эндокринологический научный центр, Москва
Ситкин Иван Иванович	к.м.н., старший научный сотрудник отделения рентгенодиагностики и рентгеновской компьютерной томографии, ФГУ Эндокринологический научный центр, Москва
Ильин Александр Викторович	зав. лабораторией клинической биохимии, ФГУ Эндокринологический научный центр, Москва
Арбузова Маргарита Ивановна	к.м.н., в.н.с. лаборатории клинической биохимии, ФГУ Эндокринологический научный центр, Москва
Гончаров Николай Петрович	д.м.н., профессор, зав. лабораторией биохимии гормонов, ФГУ Эндокринологический научный центр, Москва
Кация Гульнара Викторовна	д.м.н., главный научный сотрудник лаборатории биохимии гормонов, ФГУ Эндокринологический научный центр, Москва
Александров Андрей Алексеевич	д.м.н., профессор, зав. лечебно-диагностическим отделением функциональной кардиологии, ФГУ Эндокринологический научный центр, Москва
Кухаренко Светлана Семеновна	к.м.н., ведущий научный сотрудник лечебно-диагностического отделения функциональной кардиологии, ФГУ Эндокринологический научный центр, Москва
Шестакова Марина Владимировна	д.м.н., профессор, директор Института диабета, ФГУ Эндокринологический научный центр, Москва
Дедев Иван Иванович	академик РАН и РАМН, директор ФГУ Эндокринологический научный центр, Москва