ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ЭНДОКРИНОЛОГИИ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

МИХАЛЕВА
ОЛЬГА ВАЛЕНТИНОВНА

ОЦЕНКА НЕФРОПРОТЕКТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ ТЕРАПИИ ИНГИБИТОРАМИ ДИПЕПТИДИЛПЕПТИДАЗЫ 4 ТИПА У ПАЦИЕНТОВ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА.

14.01.02 – эндокринология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор,
академик РАН
М.В. Шестакова

Москва – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 4

Степень разработанности темы исследования 6

Цели исследования 6

Задачи исследования 7

Положения, выносимые на защиту 7

Научная новизна 8

Апробация диссертации 8

Публикации 8

Структура и объем диссертации 9

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 10

САХАРНЫЙ ДИАБЕТ: ДИАГНОСТИКА, ПАТОГЕНЕЗ ХБП, ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ РАННИЕ БИОМАРКЕРЫ ХБП, ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ХБП 10

1.1. Диагностика ХБП при СД 10

1.2. Патогенез ХБП при СД 16

1.3. Потенциальные ранние биомаркеры ХБП при СД 17

1.3.1. Маркеры тубулярной дисфункции 17

1.3.2. Маркеры клубочкового поражения 23

1.3.3. Маркеры подоцитарной дисфункции 26

1.3.4. Маркер тубулярного и гломерулярного повреждения 28

1.3.5. Факторы роста 30

1.4. Основные принципы профилактики и лечения ХБП при СД 32

1.4.1. Инкретины 33

1.4.2. Нефропротектеция - потенциальные механизмы действия ингибиторов ДПП-4 36

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 40

2.1. Дизайн исследования **40**

2.1.1. Одномоментное исследование: **40**

2.1.2. Проспективное исследование: **41**

2.2. Критерии включения пациентов в исследование **43**

2.3. Критерии исключения пациентов из исследования **43**

2.4. Общеклинические методы исследования **44**

2.5. Специальные методы исследования **45**

2.4. Статистический анализ результатов исследования **46**

Этическая экспертиза **46**

Глава III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ **47**

3.1. Результаты одномоментного исследования **47**

3.2. Результаты проспективного исследования **75**

ГЛАВА VI. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ **83**

4.1. Обсуждение результатов одномоментного исследования **83**

4.2. Обсуждение результатов проспективного исследования **89**

ЗАКЛЮЧЕНИЕ **93**

ВЫВОДЫ **94**

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ **94**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ **95**

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ **96**

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Диабетическое поражение почек занимает лидирующие позиции в структуре всех заболеваний почек, приводящих к потребности в заместительной почечной терапии, составляя от 33 до 55%[1]. В России патология почек является одной из наиболее частых причин смерти больных СД2 (сахарным диабетом 2 типа) после сердечно-сосудистых заболеваний и онкологии [2].

В настоящее время диагностика хронической болезни почек (ХБП) у пациентов с СД как 1, так и 2 типа, основывается на оценке экскреции альбумина в моче - микроальбуминурии (МАУ). Однако неспецифичность данного метода при СД2 значимо снижает прогностическую ценность анализа для диагностики диабетической патологии почек, поскольку при СД 2 появление МАУ связано не только с ХБП, но и множественной сопутствующей патологией: гипертонической болезнью, сердечно-сосудистой патологией, застойной сердечной недостаточностью, ишемической нефропатией и пр., которые могут также приводить к повышению экскреции альбумина с мочой.

В связи с этим все более очевидной становится необходимость поиска более ранних информативных биомаркеров отражающих доклинические изменения в почках и разработки нефропротекции на начальных стадиях ХБП [3].

Протеомика — наука, основным предметом изучения которой являются белки, их функции и взаимодействия в живых организмах, в том числе у человека. Основная задача протеомики –это количественный анализ экспрессии белков в клетках в зависимости от их типа, состояния или влияния внешних условий [4]. С 2002 года протеомика сыграла значительную роль в изучении ДН. Из ряда протеомных исследований были получены данные, которые позволяли лучше понять патофизиологические механизмы патогенеза ДН , а также были идентифицированы большое количество кандидатов биомаркеров для диагностики и прогнозирования ДН [5]. Многие исследования отмечают, что мочевой протеомный анализ позволяет выявлять маркеры, специфичные для диабетического поражения почек. В исследовании Rossing K. et al. было обнаружено, что белковый спектр мочи у пациентов с СД отличается от здоровых людей на 40 белков, и на основании анализа спектра мочевых белков можно прогнозировать развитие ДН в среднем за 2-4 года, а у некоторых больных за 5 лет, до выявления МАУ[6], [7].

В настоящее время получен набор биомаркеров мочи, который позволяет прогнозировать развитие ХБП при СД с высокой чувствительностью и специфичностью. Эти биомаркеры характеризуют повреждение почечных клубочков, канальцев или свидетельствуют о развитии окислительного стресса и воспаления в интерстициальной ткани почек [1], [8]. Идентификация

соответствия характерных для ХБП классических маркеров поражения почек изменениям протеомного спектра, позволит использовать их в качестве очень ранних и высокоспецифичных маркеров ХБП, а также прогнозировать развитие патологии и стратифицировать пациентов группы высокого риска, нуждающихся в наиболее ранней превентивной терапии. Можно предполагать, что за протеомным анализом – «будущее» доклинической диагностики ДН. Потенциальные биомаркеры раннего диабетического повреждения почек представлены на Рисунок 1 [9].

Рисунок 1. Потенциальные биомаркеры раннего диабетического повреждения почек.

До настоящего времени с целью нефропротекции использовались препараты, блокирующие РААС (ренин-ангиотензин-альдостероновую систему) и воздействующие на классические патогенетические механизмы диабетической нефропатии – системную и внутриклубочковую гипертензию (ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) и блокаторы рецепторов ангиотензина II (БРА).

Терапия иАПФ, и БРА воздействует уже на развившийся клинический субстрат поражения почек – МАУ или протеинурию, и не применяется в отсутствие повышенной экскреции альбумина, при этом начальные нарушения при ХБП не имеют таргетной терапии. Поиск альтернативных возможностей нефропротекции и методов активного воздействия на самых ранних стадиях ХБП позволил бы предотвратить или отсрочить прогрессирование утраты почечной функции.

В последние годы возможность нефропротекции связывают с препаратами инкретин-направленного действия, в частности с ингибиторами фермента дипептидилпептидазы-4 (иДПП4), демонстрирующих плейотропные эффекты независимые от их сахароснижающего действия. В эксперименте на животных применение иДПП4 показало уменьшение экскреции альбумина, маркеров оксидативного стресса, уменьшение экспрессии ряда провоспалительных факторов, а также регресса характерных морфологических изменений в почках [1].

Эти данные позволяют предположить использование препаратов иДПП4 с целью оптимальной превентивной нефропротекции у пациентов СД 2.

Степень разработанности темы исследования

Большинство работ, посвященных изучению ранних биомаркеров почечного повреждения при СД2 проводились на животных моделях. В мире представлены единичные исследования по изучению показателей маркеров доклинической диагностики диабетической патологии почек. До настоящего времени в России практически не оценивались ранние биомаркеры повреждения почек при СД2 в крови и моче. Вместе с тем, такой подход представляется перспективным, так как позволяет разработать информативные «мочевые тесты» и маркеры крови для ранней диагностики ХБП при СД2 и поможет оценивать риски ее прогрессирования, что будет способствовать оптимизации нефропротекциии, торможению нефросклероза, отдалению развития терминальной ХБП и начала дорогостоящей заместительной почечной терапии.

В настоящее время получены данные о наличии нефропротективных свойств у ингибиторов фермента дипептидилпептидазы-4 (иДПП4), уже доказанных в исследованиях на животных и в ряде исследований у человека, проведенных за рубежом. В России подобная оценка у пациентов с СД2 практически не проводилась. В целом, данная тема представляется достаточно слабо разработанной даже в мировом масштабе.

Цели исследования

1. Определить диагностическую ценность гломерулярных и тубулоинтерстициальных биомаркеров поражения почек при СД2.
2. Оценить возможность ранней нефропротекции посредством иДПП4 у пациентов с СД2.

Задачи исследования

1. Определить содержание биомаркеров повреждения клубочкового и тубулоинтерстициального аппарата почек в крови и моче у пациентов с СД 2 типа и оценить их корреляционную взаимосвязь с классическими лабораторными показателями почечной дисфункции – альбуминурией (АУ) и скоростью клубочковой фильтрации (СКФ).
2. Оценить диагностическую значимость исследуемых биомаркеров на основании сопоставления чувствительности и специфичности методики по сравнению с оценкой АУ и определить диагностическую панель биомаркеров раннего повреждения почек при СД 2 типа.
3. Определить пороговый диагностический уровень для биомаркеров с максимальными показателями чувствительности и специфичности.
4. Изучить влияние терапии иДПП4 (вилдаглиптина) на классические маркеры поражения почек (АУ, СКФ), а также на динамику биомаркеров клубочкового и тубулоинтерстициального поражения почек при добавлении к предшествующей сахароснижающей терапии на доальбуминурической стадии повреждения почек.

Положения, выносимые на защиту

1. Изменение уровня гломерулярных и тубулоинтерстициальных биомаркеров у пациентов с СД 2 по сравнению со здоровым контролем выявляются до развития микроальбуминурии и снижения СКФ: повышение мочевой экскреции NGAL/креатинина, нефрина, цистатина С, снижение мочевой экскреции уромодулина, повышение в плазме крови уровня цистатина С и VEGF-A. Изменения содержания указанных биомаркеров коррелируют со степенью выраженности ХБП, определенной стандартными диагностическими тестами – АУ и СКФ.
2. Определена панель биомаркеров, имеющих более высокие показатели чувствительности и специфичности по сравнению со стандартным исследованием АУ при СД2: NGAL/креатинин, нефрин, цистатин С мочи и цистатин С плазмы крови.
3. Диагностическими пороговыми значениями установленных биомаркеров для ранней диагностики ХБП у пациентов с СД2 являются следующие уровни: NGAL/креатинин >0,204 мкг/ммоль, нефрин >0,148 нг/мл, цистатин С >0,254 мг/л в моче и цистатин С >0,775 мг/л в плазме.
4. Добавление к стандартной сахароснижающей терапии иДПП4 (вилдаглиптин, 100 мг/сутки) в течение 6 месяцев приводит к снижению уровня экскреции нарушенных биомаркеров и стабилизации уровня СКФ в группе лечения, без статистически значимого изменения контроля

гликемии, что позволяет рекомендовать его в качестве превентивной нефропротекции на доклинической стадии ХБП.

Научная новизна

В данной работе впервые будет оценена информативность использования неинвазивных методик определения гломерулярных и тубулоинтерстициальных биомаркеров с целью ранней (до развития МАУ) диагностики ХБП у пациентов с СД2.

Также впервые будут изучены нефропротективные свойства ингибиторов фермента дипептидилпептидазы-4 (иДПП4) у больных с СД2 на основании оценки классических маркеров поражения почек и изменения гломерулярных и тубулоинтерстициальных биомаркеров мочи и крови до и после курса терапии.

Апробация диссертации

Официальная апробация работы состоялась 06 июля 2018 на совместном заседании кафедры эндокринологии лечебного факультета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и научных сотрудников ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России (протокол № 9 от 06.07.2018 года).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, из них 3 входят в перечень отечественных рецензируемых журналов, рекомендуемых для публикации основных результатов диссертаций:

1. Клинический потенциал использования протеомного анализа в ранней диагностике хронической болезни почек у больных сахарным диабетом. VII Всероссийский диабетологический конгресс «Сахарный диабет в XXI веке - время объединения усилий" (Москва 2015 г.).

2. Биомаркеры хронической болезни почек у больных сахарным диабетом 2 типа. VII Всероссийский конгресс эндокринологов. Достижения персонализированной медицины сегодня - результат практического здравоохранения завтра (Москва 2016 г.).

3. Novel biomarkers of chronic kidney disease in diabetes. 18-й Конгресс Европейской ассоциации эндокринологов (ECE, Мюнхен 2016 г.).

4. Early biomarkers of chronic kidney disease in diabetic patients. 5-й Европейский конгресс по атеросклерозу (EAS, Инсбрук 2016 г.).

5. Predictive Biomarkers for Chronic Kidney Disease in Diabetes.52-й Конгресс Европейской ассоциации по изучению диабета (EASD, Мюнхен 2016 г.).

6. Tubular and glomerular biomarkers of kidney injury on glucagon-like peptide-1 (glp-1) therapy in type 1 diabetic patients.19-й Конгресс Европейской ассоциации эндокринологов (Мюнхен 2017).

7. Экскреция с мочой маркеров повреждения подоцитов у больных сахарным диабетом. Терапевтический архив, 2015.

8. Негликемические эффекты инкретинов у пациентов с длительным течением сахарного диабета 1-го типа и хронической болезнью почек. Терапевтический архив, 2015.

9. Ренальные эффекты агонистов рецепторов глюкагоноподобного пептида у больных сахарным диабетом 1-го типа. Терапевтический архив, 2018.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 114 страницах и включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, главу с описанием материалов и методов, результаты собственных исследований, обсуждение исследований, заключение, выводы и практические рекомендации. Список литературы включает 289 источников (40 отечественных и 249 зарубежных). Работа иллюстрирована 10 таблицами и 26 рисунками.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

САХАРНЫЙ ДИАБЕТ: ДИАГНОСТИКА, ПАТОГЕНЕЗ ХБП, ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ РАННИЕ БИОМАРКЕРЫ ХБП, ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ХБП

1.1. Диагностика ХБП при СД

Сахарный диабет (СД) – это хроническое неинфекционное заболевание, характеризующееся нарушением обмена веществ, хронической гипергликемией, в результате нарушения секреции инсулина поджелудочной железой, действия инсулина в организме или обоих этих факторов, вызывающее развитие микрососудистых и макрососудистых осложнений, в конечном итоге приводящее увеличению инвалидизации и смертности при этом заболевании [2].

За последние 10 лет численность больных СД в мире увеличилась более чем в 2 раза и к концу 2015 года достигала 415 млн. человек. Согласно прогнозам Международной диабетической федерации, к 2040 году СД будут страдать 642 млн человек, из них 90% - пациенты с СД 2. [10].

По данным Федерального регистра, в России в 2016 году 4 млн. человек находились на диспансерном учете по поводу СД 2, что составило почти 3% населения. Однако эти данные недооценивают реальное количество пациентов, поскольку учитывают только выявленные и зарегистрированные случаи заболевания, а реальная численность пациентов с СД2 в РФ может достигать 8–9 млн человек (около 6% населения) [2], [11].

Тяжесть СД2 обусловлена генерализованным поражением сосудистой системы с развитием множественных микрососудистых (нефропатия, ретинопатия) и макрососудистых осложнений (ишемическая болезнь сердца (ИБС), периферический атеросклероз) [12].

Самыми опасными последствиями СД являются его сосудистые осложнения, среди которых особую проблему представляет диабетическая нефропатия (ДН), приводящая к развитию терминальной стадии хронической почечной недостаточности и являющаяся одной из основных причин инвалидизации и смертности больных СД. Частота выявления ДН находится в прямой взаимосвязи от длительности СД [13]. В связи с этим все более очевидной становится целесообразность программы нефропротекции на ранних стадиях ДН, изучение механизмов развития и прогрессирования ДН, поиск наиболее ранних информативных биомаркеры отражающих ранние, не выявляемые клинически, изменения в почках.

Последние десятилетия единственным широко доступным методом ранней диагностики ДН у пациентов с СД 1 и 2 типа являлся уровень экскреции альбумина в моче - микроаальбуминурия (МАУ). Эпидемиология ДН при СД2 менее изучена, поскольку точное установление времени начала заболевания, как правило, затруднено. Развиваясь чаще у лиц пожилого возраста, МАУ не является специфичным предиктором ДН при СД 2-го типа, а в большей степени отражает дисфункцию эндотелиальной выстилки сосудов и является доказанным маркером риска развития сердечно-сосудистых заболеваний. МАУ может появляться при состояниях, не связанных с ДН — гиперурикемии, мочевой инфекции, длительной артериальной гипертензии, застойной сердечной недостаточности, при больших физических нагрузках и высокобелковой диете [1]. Поэтому оценить частоту развития истинно ДН достаточно сложно. Более того, МАУ в 15-40 % случаев обнаруживается сразу при первом выявлении СД2 или даже предшествует установлению диагноза диабета [13].

Другой доступный способ исследования функции почек – расчет скорости клубочковой фильтрации (СКФ), позволяет диагностировать поражение почек на еще более поздних стадиях, чем МАУ. Развитие МАУ отражает поражение преимущественно клубочкового аппарата почки. Проведенные к настоящему времени исследования позволяют говорить, что при диабете достаточно часто повреждается интерстициальная ткань почек, что может не проявляться повышением экскреции белка с мочой. Кроме того, структурные изменения в почках возникают гораздо раньше появления МАУ и, таким образом, остаются не диагностированными.

В настоящее время биопсия почки является единственным достоверным методом диагностики ДН, позволяющим выявлять самые ранние структурные изменения в почках. Однако при самой высокой информативности метод пункционной биопсии является инвазивным и сопряжен с определенными рисками.

В последнее время появились сведения о возможности использования с целью ранней не инвазивной диагностики ДН белковых маркеров биологических жидкостей (крови и мочи), которые не только четко коррелируют с развитием структурных нарушений почечной ткани по данным экспериментальных исследований, но и определяются раньше, чем развитие МАУ[9]. С этой точки зрения использование методов белкового анализа биологических сред организма является наиболее перспективным направлением неинвазивной идентификации нарушений, ассоциированных с диабетическим поражением почек.

В связи с глобальным ростом в мире количества людей с заболеваниями почек различной этиологии , по предложению Национального Почечного Фонда США (National Kidney Foundation – NKF) в практику был введен термин «хроническая болезнь почек» – chronic kidney disease (CKD)

[14], [15]. В дальнейшем над данной концепцией работали эксперты Европейской Почечной Ассоциации – Европейской Ассоциации Диализа и Трансплантации (ERA-EDTA) и KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) [16].

Последние годы ознаменовались значительным ростом в мире числа больных СД и ХБП [17], [18]. Эти две медицинские проблемы тесно взаимосвязаны, поскольку диабет занял лидирующие позиции среди причин развития почечной патологии[19]. Снижение функции почек, по современным представлениям, является самостоятельной и важной причиной ускоренного развития патологических изменений сердечно-сосудистой системы. Это обусловлено рядом метаболических и гемодинамических нарушений, которые развиваются у больных со сниженной СКФ, когда возникают и выходят на первый план нетрадиционные, «почечные» факторы сердечно-сосудистого риска: альбуминурия, системное воспаление, оксидативный стресс, анемия, гипергомоцистеинемия и др. [14].

На сегодняшний день ХБП определяется как нарушение структуры или функции почек, наблюдаемое в течение 3 месяцев и более и оказывающее влияние на здоровье, вне зависимости от нозологического диагноза. ХБП классифицируется по причине, уровню СКФ и альбуминурии [20].

ХБП является понятием наднозологическим и в то же время не является формальным объединением хронических почечных заболеваний различной природы в одну большую аморфную группу, подменяя этиологический принцип.

Понятие ХБП, с одной стороны, отражает наличие общих факторов риска развития и прогрессирования нефропатий, универсальных механизмов формирования нефросклероза и вытекающих отсюда способов первичной и вторичной профилактики, а также наличие общего исхода – терминальной почечной недостаточности.

Следует подчеркнуть, что понятие ХБП не отменяет нозологический подход к диагностике заболеваний почек. Необходимо добиваться идентификации конкретной причины (или причин) развития повреждения почек для того, чтобы установить нозологический диагноз и максимально рано назначить соответствующую этиотропную и патогенетическую терапию. В то же время, концепция ХБП при разных нозологических формах является универсальным инструментом для определения степени нарушения функции, расчета риска развития терминальной почечной недостаточности и сердечно-сосудистых осложнений, планирования и оценки эффективности нефропротективного лечения, подготовки и начала заместительной почечной терапии [21].

У пациентов с СД используют два ключевых маркера для диагностики ХБП – оценка альбуминурии и СКФ. Альбуминурия используется для диагностики и мониторинга заболевания почек. Изменения в экскреции альбумина в моче может отражать ответ на проводимую терапию и

определять риски прогрессирования ХБП. Уменьшение альбумина в моче ассоциированы с улучшением ренальных и сердечно-сосудистых исходов [22].

Рекомендуется определять экскрецию альбумина в моче ежегодно для диагностики и мониторинга повреждения почек у больных с СД1 типа, через 5 лет и более от дебюта заболевания и у пациентов с установленным диагнозом СД2 сразу в дебюте заболевания. Более частый мониторинг может быть показан пациентам с изменением клинического статуса или после терапевтических вмешательств [11].

Сегодня возможностей ранней доклинической диагностики ДН стало больше. По-прежнему МАУ остается важнейшим маркером развивающейся нефропатии при СД 1, но при СД 2 трактовка этого показателя претерпела изменения. Ряд исследований показало, что экскреция альбумина с мочой имеет высокую вариабельность, доходящую до 40% при последовательно выполненных измерениях. Установлено, что значения альбуминурии при СД 2 не всегда синхронизированы с изменением фильтрационной функции почек; в частности, у 50% больных СКФ может быть снижена даже при нормальном уровне альбумина в моче [23], [1].

В 2013 году экспертами по разработке глобальных рекомендаций в области заболеваний почек – KDIGO было предложено больше не использовать традиционную терминологию: нормо-, микро-, макроальбуминурия/ протеинурия.

Повысить точность оценки степени альбуминурии по разовой случайной порции мочи позволяет поправка на уровень креатинина мочи - ACR (albumin to creatinine ratio), соотношение экскреции альбумина и креатинина в утренней порции мочи [11], который устраняет искажения результата, связанное с разведением или концентрированием мочи при различных питьевых режимах.

На сегодняшний день градацию альбуминурии принято определять следующим образом:

А1 - ACR <30 мг/г (<3 мг/ммоль) - норма или незначительно повышена;

А2 - ACR 30—300 мг/г (3 -30 мг/ммоль) - умеренно повышена;

А3 – ACR > 300 мг мг/г (> 30 мг/ммоль) – значительно повышена [20].

Показатель ACR приблизительно оценивает экскрецию альбумина мочи в течении суток.

За диагностический порог альбуминурии принят уровень >30 мг/г (>3 мг/ммоль). Сохраняющееся на протяжении более 3 месяцев превышение данного порога альбуминурии указывает на ХБП.

Изучение большой когорты пациентов с ХБП показало, что более высокий ACR на момент постановки диагноза был ассоциирован с повышенным риском ренальных событий, таких как снижение СКФ на 50%, диализом или смертью [24].

Критерием снижения функции почек является уровень СКФ. Золотым стандартом измерения СКФ является клиренс инулина, который в стабильной концентрации присутствует в плазме, физиологически инертен, свободно фильтруется в клубочках, не секретируется, не реабсорбируется, не синтезируется, не метаболизируется в почках. Определение клиренса инулина, также, как и клиренса экзогенных радиоактивных меток (^{125}I-иоталамата и ^{99m}Tc-DTPA) дорогостоящее и труднодоступное в рутинной практике. Разработан ряд альтернативных методов оценки СКФ.

В 1926 году П. Ребергом был предложен метод исследования СКФ по клиренсу экзогенного креатинина почками. Однако, предложенный метод при практическом применении создавал определённые трудности, связанные с необходимостью внутривенного введения креатинина извне. В дальнейшем было установлено, что концентрация креатинина в плазме крови является практически постоянной величиной и не подвергается существенным колебаниям. Опираясь на данное открытие, в 1936 году Е.М. Тареев усовершенствовал метод Реберга, предложив определять СКФ по клиренсу эндогенного креатинина, таким образом упростив существовавшую ранее методику. В этой связи сегодня данный метод известен как проба Реберга-Тареева. Необходимость в контроле над количеством употребляемой жидкости и диурезом определяет ограничения в выполнении пробы Реберга–Тареева на амбулаторном этапе. Тем не менее она по-прежнему присутствует в большинстве рекомендаций и стандартов в качестве метода оценки СКФ.

В настоящее время с целью повышения точности и упрощения определения величины СКФ в клинической практике рекомендуют использование специальных формул, для которых необходимы только уровень сывороточного креатинина и антропометрические показатели; оценки диуреза и сбора суточной мочи не требуется.

Одной из первых была предложена формула Cockroft–Gault, которая довольно точно отражает СКФ на начальных стадиях 1-3 ХБП [25], Она проста в применении , но при этом полученное значение необходимо стандартизировать на поверхность тела пациента, что значительно усложняет расчеты [21].

Позднее на основании данных исследования MDRD (Modifcation of Diet in Renal Disease) была определена новая формула, точнее отражающая функцию на 3-5 стадиях ХБП, не требующая дополнительной стандартизации на поверхности тела и необходимости учитывать антропометрические показатели, получившие название формулы MDRD [26]. Существует два варианта формулы MDRD: полная и сокращенная. Для расчета СКФ по полной (оригинальной) формуле требуется ряд биохимических показателей наряду с сывороточным креатинином. Для использования сокращенной формулы MDRD необходимы только демографические данные (пол, возраст, раса) и уровень креатинина сыворотки, что делает ее очень удобной для скрининговых

исследований в амбулаторной практике. Результаты, получаемые при применении обеих формул, сопоставимы. Недостатками формулы является недостаточная точность расчета СКФ у пациентов с нормальной или незначительно сниженной функцией почек[27].

В настоящее время для более точного расчета СКФ на любой стадии ХБП у представителей всех рас используется формула СКФ-EPI [16]. Исследования показали, что формула СКФ-EPI является лучшим маркером СКФ для пациентов с нормоальбуминурией и гиперфильтрацией и может применяться для скрининга ранних ренальных нарушений при СД [28].

СКФ в пределах 60–89 мл/мин/1,73 $м^2$ расценивают как начальное или незначительное ее снижение. Для установления ХБП в этом случае необходимо наличие также и маркеров почечного повреждения. В настоящее время в диагностике ХБП для определения прогноза и темпов ее прогрессирования на фоне терапии большое значение придается оценке альбуминурии [21]. Если СКФ ниже 60 мл/мин/1,73 $м^2$, наличие ХБП устанавливается даже при отсутствии каких-либо маркеров почечного повреждения, при этом 3-месячное ограничение в качестве временного параметра определения ХБП было выбрано потому, что в данные сроки острые варианты развития дисфункции почек, как правило, завершаются выздоровлением или, приводят к очевидным клинико-морфологическим признакам хронизации процесса.

В качестве альтернативного маркера функционального состояния почек и сердечно-сосудистого риска в последние годы рассматривается цистатин С - белок с низким молекулярным весом, ингибитор протеаз [29]. Цистатин С характеризуется свободной клубочковой фильтрацией, не подвергается канальцевой секреции.

Разработаны формулы для расчета СКФ на основании уровня цистатина С [30], [31]. В ряде исследований показана эквивалентность цистатина С и креатинина в оценке функции почек, также опубликованы данные, свидетельствующие о превосходстве цистатина С в отношении оценки СКФ, особенно при нормальной и незначительно сниженной СКФ [32], [33]. У пожилых людей цистатин С оказался лучшим предиктором развития сердечной недостаточности по сравнению с уровнем креатинина [34], [35], также рассчитанная с его помощью СКФ более достоверно отражала функцию почек в данной возрастной группе [31]. Однако среди факторов, влияющих на концентрацию цистатина С, указываются возраст, пол, рост, вес, курение, сывороточный уровень С-реактивного белка, терапия стероидами, ревматоидный артрит[36], [37]. Исследование Peralta и др. показало, что сочетанная оценка таких показателей как цистатина С , креатинин и ACR улучшали точность прогнозирования смертности при терминальной стадии ХБП , а также от всех других причин [38].

1.2. Патогенез ХБП при СД

Патофизиология ХБП при СД имеет сложный, многофакторный патогенез, с участием генетических и экологических компонентов. ДН развивается в результате взаимодействия между гемодинамическими и метаболическими факторами, среди которых хроническая гипергликемия имеет центральную роль. При СД1 острая гипергликемии является ключевым фактором развития и прогрессирования ДН [39]. Она индуцирует неферментное гликирование белков, окислительный стресс, активирует протеинкиназу С, митоген-активирующую протеинкиназу, действие факторов роста, вазоактивных факторов, цитокинов, вызывающих повреждение почек на уровне клетки [19], в то время как при СД2 гипергликемии предшествует длительный период, во время которого происходят ряд нарушений (ожирение, гиперинсулинемия, гипертония и дислипидемия), способных негативно повлиять на структуру и функцию почек [40].

При хронической гипергликемии часть избыточной глюкозы связывается со свободными аминокислотами на циркулирующих или тканевых белках. Этот неферментативный процесс впоследствии приводит к необратимым конечным продуктам гликирования, накапливаясь, они способствуют почечным и микрососудистым осложнениям [41].

Ранняя стадия ДН не сопровождается выраженными клиническими симптомами, для нее характерны изменения в структуре и функции почек, включающие клубочковую гиперфильтрацию, увеличение потока почечной плазмы, тубулярную и клубочковую гиперплазию и гипертрофию, а также увеличение размера почек. Эти ранние изменения в почечной ткани в сочетании с системной гипертензией имеют важное значение для развития и прогрессирования ХБП при СД2 типа. Также к факторам, опосредующим прогрессирование ДН, относятся: нарушенная внутрипочечная гемодинамика, нарушения липидного обмена, протеинурия и ишемия почки. Определенное место отводят курению, ожирению, инсулинорезистентности, высокобелковой диете.

Ишемия почки, вызванная атеросклерозом почечных сосудов, усугубляет развитие тубулоинтерстициальных изменений. В условиях ишемии в клетках канальцев резко возрастает синтез факторов роста, вазоактивных факторов и цитокинов, вызывающих воспаление в интерстиции почек, атрофию канальцев, повышение синтеза коллагена и фиброз интерстиция [42].

При СД2, все чаще выявляется почечная патология с преимущественным поражением интерстиция и канальцев почек, а скорость снижения почечной фильтрации связана с выраженностью тубулоинтерстициального фиброза, характеризующегося прогрессирующим накоплением белков экстрацеллюлярного матрикса. Его развитие – это результат активации мощных цитокиновых провоспалительных каскадов, инициируемых гетерогенными повреждающими

факторами: иммунными, ишемическими, токсическими, метаболическими, нарушением почечной гемодинамики, артериальной гипертонией, а также функциональной перегрузкой почек. Также, активно обсуждается роль эндотелиальной дисфункции, приводящей к гемодинамическим нарушениям в почке и, как следствие, к нарушению в структуре интерстиция [43].

На сегодняшний день известно, что поражение почек при СД возникает лишь приблизительно у 40% больных, и развитие этого осложнения не всегда можно объяснить только неудовлетворительным контролем гликемии или артериального давления (АД) [1].

До настоящего времени не известно, что является первопричиной раннего развития патологии почек при СД (повреждения клубочков, канальцев или интерстициальной ткани). Большие надежды возлагаются на исследования мочи и крови у больных СД на стадии НАУ, которые позволят не только рано диагностировать диабетическое поражение почек, но и помогут выявить биомаркеры, адресно указывающие на источник первичного нарушения ткани почек [44]. Сегодня с этой целью используются самые современные технологии, включающие передовые достижения в области генетики, транскриптомики , эпигенетики , протеомики и метоболомики [45], [1].

1.3. Потенциальные ранние биомаркеры ХБП при СД

1.3.1. Маркеры тубулярной дисфункции

NGAL (нейтрофильный желатиназно-ассоциированный липокалин)

NGAL - это липокалин, ассоциированный с желатиназой нейтрофилов, впервые открыт и описан в 1993 г., выделен из супернатанта нейтрофилов, который вскоре получил признание нефрологов в качестве маркера острого повреждения почек (ОПП). NGAL человека состоит из одной полипептидной цепи, содержащей 178 аминокислотных остатков. Белок освобождается из гранул нейтрофилов в виде мономера, гомо- и гетеродимера, связан с матриксной металлопротеиназой-9 и синтезируется в разных органах и в различных типах клеток и имеет молекулярную массу 25 кДа. Основные функции NGAL заключаются в стимулировании пролиферации поврежденных клеток, в первую очередь, эпителиальных, а также в противодействии бактериальным инфекциям [46]. Среди других функций – нормализация поврежденных тканей за счет участия в процессе апоптоза, повышение выживаемости поврежденных клеточных структур, восстановление поврежденного эпителия за счет стимулирования дифференцировки и структурной реорганизации почечного эпителия. В зависимости от условий NGAL может быть и фактором выживания клеток, и проапоптотическим фактором. NGAL – является маркером при ренальных патологиях, при злокачественных заболеваниях, индикатором тяжести метаболических нарушений и хронической

сердечной недостаточности, а также белком острой фазы воспалительного ответа, экспрессируется и синтезируется клетками, находящимися в состоянии стресса (воспаление, ишемия и др.). Повышение синтеза NGAL в клетках проксимальных канальцев вызывается нарушениями, связанными с ишемией почечной паренхимы и ее поражениями нефротоксическими соединениями [47].

В экспериментальной модели ДН у мышей уровень u-NGAL появлялся еще до классических биомаркеров диабетической нефропатии - альбуминурии и экскреции белка с мочой [48]. Результаты исследований у людей показали, что NGAL может рассматриваться как наиболее ранний и независимый показатель повреждения ткани почки и большой вероятности развития ОПП. При этом экскреция NGAL с мочой на 24–48 часов опережает повышение концентрации креатинина в сыворотке крови [49].

У человека в ответ на повреждение ренальных канальцев уровень NGAL резко возрастает как в плазме крови (уровень s-NGAL повышается в 7–16 раз), так и в моче (уровень u-NGAL увеличивается в 25–1000 раз) [50]. С каждым годом появляется все больше доказательств, предполагающих , что NGAL также является маркером ХБП и тяжести в хронической почечной недостаточности [51].

Наблюдения K.S. Woo показывают, что мочевой NGAL является надежным маркером почечной функции у пациентов с СД и ХБП. Однако по данным автора u-NGAL не обеспечивает более точную информацию о почечной функции по сравнению с СКФ [51].

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 [52] и при терапии ингибиторами ангиотензин - превращающего фермента (иАПФ) у пациентов с СД1 с ДН, однако в последней работе изменения уровня NGAL на фоне терапии не достигали уровня статистической значимости [9].

J. Carvalho, в результате обследования 117 пациентов с СД2 установил, что u-NGAL увеличивался у данных пациентов уже на уровне нормальной или несколько повышенной альбуминурии, что указывает на то, что тубулярные и гломерулярные повреждения могут происходить даже на самых ранних стадиях ХБП [53].

KIM-1 (молекула почечного повреждения 1-го типа)

KIM-1 - трансмембранный гликопротеин, содержащий 339 аминокислотных остатков в длину, впервые описанный в 1998 году [54], относится к суперсемейству иммуноглобулинов и локализуется преимущественно в апикальной мембране проксимальных канальцев. KIM-1 является маркером

хронического тубулярного повреждения при различных заболеваниях [55], содержание которого увеличивается на поверхности эпителиальных клеток в том числе и при повреждении почек [56], [9].

KIM-1 практически не определяется при отсутствии повреждения почек. Концентрация KIM-1 в моче здоровых людей меньше чем 1 нг/мл [56], [57]. В то же время были получены данные, что при ишемии почек экспрессия уровня KIM-1 может увеличиваться в несколько раз как в эксперименте у животных [58], [59], так и у людей [55], [57]. В исследовании J. Slocum и соавт. уровень KIM-1 начинает увеличиваться уже через 6 часов после ишемического инсульта головного мозга и остается повышенным в течении 48 часов [60].

На сегодняшний день KIM-1 является признанным маркером канальцевого повреждения почек при ОПП. На данный момент KIM-1 исследуется как маркер повреждения почек при различных хронических заболеваниях. Alter M. L. и соавторы в эксперименте на животных моделях ДН отмечали достоверно значимое повышение KIM-1 в плазме по сравнению со здоровым контролем, до появления классических биомаркеров ДН, таких как альбуминурия и экскреция белка с мочой [48].

Femke Waanders и соавт. обследовали пациентов с недиабетической протеинурией и ХБП. Было выявлено, что KIM-1 значительно повышался у пациентов с протеинурией по сравнению с контрольной группой, имел корреляцию с уровнем белка в моче, а также снижался параллельно с протеинурией после терапии БРА. Однако, даже когда уровень протеинурии снижался до 1 г/л , KIM-1 не достигал нормального уровня значений, что может свидетельствовать в пользу продолжения канальцевых повреждений почек [61].

В исследовании, которое включило 63 пациента с нарушениями функции почек после трансплантации, была выполнена биопсия для верификации структурных изменений в почечной ткани и определения в моче биомаркеров ОПП — KIM-1, NGAL и ИЛ-18. Нарушения функции почек наиболее сильно коррелировали с KIM-1 и в меньшей степени с NGAL и ИЛ-18. Помимо этого, высокие уровни KIM-1 ассоциировались с ухудшением выживаемости после пересадки почки [62].

Jungbauer C.G. и соавт. обследовали 150 пациентов с ХСН и выявили, что KIM-1 значительно нарастал у пациентов с ХСН по сравнению со здоровым контролем. KIM-1 повышался параллельно со снижением функции левого желудочка, а также являлся фактором, влияющим на смертность от всех причин при последующих госпитализациях по поводу сердечной недостаточности. Таким образом, Jungbauer C.G. и соавт. полагают, что поражения почечных канальцев могут уже присутствовать у пациентов с нормальной функцией почек при ХСН, а следовательно, KIM-1 может являться потенциальным маркером кардио-ренального синдрома с дополнительным прогностическим значением [63].

По данным некоторых исследований выявлялась положительная корреляция уровня KIM-1 с альбуминурией [64] и уровнем СКФ у пациентов с СД1 [64], [65].

В исследовании El-Ashmawy и соавт. было обследовано 60 человек с СД2. Пациенты были разделены на группы с «нормоальбуминурией» (альбумин в моче <30мг/дл) и диабетической нефропатией «микроальбуминурией» (альбумин в моче 30–300 мг/дл) в соответствии с уровнем экскреции альбумина в моче, также в исследование была включена группа здорового контроля, сопоставимая по клиническим характеристикам. Исследователи обнаружили десятикратное повышение уровня KIM-1 в моче у пациентов с «микроальбинурией», по сравнению с группой «нормоальбинурии» и группой контроля. Уровень KIM -1 при этом положительно коррелировал с микроальбинурией, уровнем креатенина в крови, продолжительностью диабета и ИМТ у больных СД2 типа [57].

Уромодулин (Uromodulin), протеин Тамма-Хорсфалла

Уромодулин - гликопротеин, секретируемый в клетках канальцевого эпителия толстой восходящей части петли Генле и, предположительно, начальной части извитого дистального канальца, состоящий из 640 аминокислот, включающих 48 цистеиновых остатков, которые формируют дисульфидные мостики, ответственные за формирование трехмерной структуры [66]. Это трансмембранный протеин, принадлежащий к семейству гликопротеиновых иммуноглобулинов, с молекулярной массой 85–100 кДа. [67].В суточной моче здорового человека уромодулин обнаруживается в количестве 20–70 мг [68]. В структуре физиологической протеинурии составляет примерно 40% от всех выделяемых с мочой белков, считаясь самым распространенным белком мочи [69].

Уромодулин модулирует клеточную адгезию и сигнальную трансдукцию взаимодействием с цитокинами, и ингибирует агрегацию кристаллов кальция. Снижая преципитацию оксалатов кальция, уромодулин защищает от формирования почечных камней, что продемонстрировано на модели трансгенных мышей, дефицитных по гену уромодулина, склонных к нефролитиазу [70]. Уромодулин образует гель на поверхности клеток восходящей части петли Генле, который имеет важное значение для водонепроницаемости. Он защищает от мочекаменной болезни путем предотвращения агрегации кристаллов оксалата кальция. Уромодулин действует также как защитный фактор в отношении почечных инфекций, индуцируемых уропатогенами, включая Esherichia coli, Staphylococcus saphrophyticus, связываясь с типом 1 фимбрий кишечной палочки и тем самым блокируя колонизацию уротелиальных клеток [71]. Секреция уромодулина возрастает при высокосолевой, высокобелковой диете и применении петлевых диуретиков [72].

У нокаутированных лабораторных животных дефицит уромодулина сопровождается развитием тубулоинтерстициальной болезни почек, гломерулоцистной болезни, нарушением способности концентрации мочи, также выявляется склонность к мочекаменной болезни и инфекциям мочевыводящих путей [67], [70].

Недавние исследования генетиков показали роль уромодулина в возникновении хронической болезни почек. Мутации в UMOD гене, являются причиной уромодулин накопительных болезней. Единичные нуклеатидные полиморфизмы в UMOD гене выявили ассоциацию с хронической болезнь почек [73], а также со снижением СКФ, при этом уровень уромодулина в сыворотке крови повышался [74].

Патогенетическая связь между высоким уровнем экскреции уромодулина и хронической болезнью почек остается не до конца изученной [68]. Имеются данные, что иммунная система может играть центральную роль. Уромодулин взаимодействует с различными клетками иммунной системы, включая IL-1, IL-2, TNF, IgG, нейтрофилы, лимфоциты и моноциты. Связывание уромодулина с нейтрофилами индуцирует синтез IL-8, вызывает респираторный взрыв и дегрануляцию [75], [76] и стимулирует хемотаксис и фагоцитоз [77], тем самым стимулируя неспецифическим образом уже текущую иммунную реакцию, которая может способствовать тубулоинтерстициальному повреждению и прогрессированию хронической болезни почек [68].

В двух крупных исследованиях уромодулин в моче показал свою роль в качестве биомаркера тубулярной массы [78], [79]. В работе Pruijm и др., почечная масса определялась ультразвуковым исследованием и положительно коррелировала с повышением уромодулина в моче, увеличение возраста было ассоциировано со снижением экскреции уромодулина, а показатель СКФ имел положительную корреляцию с уровнем мочевого уромодулина. Оба исследования также выявили снижение экскреции уромодулина в моче при СД и повышении уровня HbA1c [78], [79]. Данные результаты показывают, что СД может оказывать прямое токсическое действие на клетки почечных канальцев, это согласуется с недавними исследованиями пациентов с прогрессирующей ХБП и СД, у которых не отмечалась значимой протеинурии или клубочковой дисфункции [80]. Первые изменения в почках при СД начинаются с отложения гликогена в клетках канальцевого эпителия толстой восходящей части петли Генле, приводящие к снижению продукции уромодулина, которая компенсируется увеличением тубулярной массы почек , а следовательно их веса и размера [81], [82]. При этом уромодулин может влиять на поток и внутрипросветное давление в канальцах и таким образом, косвенно, на интрагломерулярное давление [83], приводящее к гиперфильрации, что увеличивает риск развития ДН [81].

Остеопонтин

Остеопонтин (OPN) является кислым белком внеклеточного матрикса [84], это молекула адгезии, относительно распространенная не только в костном матриксе, плазме, моче и молоке, но также выявляется в злокачественных тканях и при атеросклерозе. Это секреторный сиалопротеин, пропептид которого образован 314 аминокислотными остатками [85], секретируется в различных типах клеток - таких как остеокласты, лимфоциты, макрофаги , эпителиальные клетки и гладкомышечные клетки сосудов [86], был впервые выделен и идентифицирован в 1985 году [87].

Остеопонтин экспрессируется преимущественно в петле Генле и дистальных канальцах нефрона, участвует в процессах оксидативного стресса, вовлечен в процессы тубулоинтерстициального поражения, широко представлен в эмбриональных тканях, в постнатальный период обнаруживается в относительно низких концентрациях в почках, а также в костной и эпителиальной тканях [88]. При дефиците остеопонтина возникает дезорганизация внеклеточного матрикса, что ассоциировано с нарушением синтеза коллагена I типа [89].

Являясь протеином с множественными функциями, остеопонтин участвует не только в процессах реконструкции костной ткани, но и играет важную роль в регулировании клеточной миграции [90], в продукции цитокинов, адгезии и дифференциации различных клеток [84], в том числе эндотелиоцитов, макрофагов, лимфоцитов и фибробластов, гладкомышечных клеток, а также проявляет про- и антивоспалительные качества [89], [91], [92].

Описан полиморфизм гена остеопонтина , клиническое значение которого , не ясно до настоящего времени [93]. Концентрация остеопонтина существенно возрастает при опухолевом росте, метастазировании, атеросклерозе, инфаркте миокарда, инсульте, а также при новообразовании интимы после сосудистых реконструкций, сердечной недостаточности, гипоксии, сахарном диабете и курении, а также ожирении.

Фосфорилирование, гликозилирование и взаимодействие с кальцием позволяют интактному и фрагментированному остеопонтину влиять на множество разнообразных реакций, включая ремоделирование ткани, воспаление и выживаемость клеток. Остеопонтин обнаруживается в атеросклеротических бляшках и может проявлять свое действие при многих видах сосудистой патологии, обусловленных диабетом [94], [95], [96].

Исследование Kawamura et al. in vitro показало , что высокие показатели глюкозы в крови могут позитивно регулировать уровень остеопонтина [97].В течение последнего десятилетия ряд исследований попытались проанализировать роль остеопонтина в патогенезе ДН [98].

Исследования на моделях животных с индуцированной ДН показали наличие выраженной экспрессии остеопонтина в трубчатом эпителии почечной ткани [99], [100]. Это было связано с

значительным накоплением макрофагов в интерстиции почек, указывающее на то, что повышение экспрессии остеопонтина и нарастание макрофагов могут играть роль в тубулоинтерстициальном повреждении при ДН [99].

Alter et al. в эксперименте на животных с индуцированной диабетической нефропатией отмечали статистически значимое повышение уровня остеопонтина в плазме крови и моче по сравнению с здоровыми животными уже на самых ранних стадиях заболевания, до появления классических биомаркеров ДН, таких как альбуминурия [48].

Исследование Yan et al. показало, что уровень остеопонтина в плазме независимо связан с наличием и тяжестью диабетической нефропатии у пациентов с СД2 [101]. Исследование van der Leeuw et al. 1002 пациентов с СД2 показали, что остеопонтин является одним из новых биомаркеров, позволяющих улучшить возможности прогнозирования кардиоваскулярных осложнений у больных СД2 без учета традиционных факторов риска [102].

В последнее время в литературе появились сведения о связи между РААС и остеопонтина при ДН. Индуцированная СД экспрессия остеопонтина и накопление макрофагов в интерстиции почек на диабетических моделях крыс значительно смягчается после лечения ингибиторами АПФ. Это также подтверждается в работах Li и соавт., где лечение ингибиторами АПФ в течение девяти месяцев улучшало СКФ, а также уменьшало экскрецию альбумина с мочой, систолическое АД, развитие гломерулосклероза, тубулоинтерстициального фиброза и воспалительно-клеточной инфильтрации у эксперементальных животных [103]. Следует отметить, что все эти эффекты ингибиторов АПФ были ассоциированы с значимым подавление экспрессии остеопонтина, предполагая, что блокада РААС ингибиторами АПФ может давать нефропротекцию путем уменьшения секреции остеопонтина при ДН [98].

1.3.2. Маркеры клубочкового поражения

Коллаген IV типа (Type-IV collagen)

В настоящее время описано 28 типов коллагена, которые кодируются более чем 40 генами. Они отличаются друг от друга по аминокислотной последовательности, а также по степени модификации — интенсивности гидроксилирования или гликозилирования. Общим для всех коллагенов является существование 1 или более доменов, содержащих тройную спираль и присутствие их во внеклеточном матриксе. Более 90 % всего коллагена высших организмов приходится на коллагены I, II, III и IV типов [9].

Нарушения обмена компонентов внеклеточного матрикса, прежде всего коллагена, играют центральную роль в формировании диабетической нефропатии (ДН) [104].

Значительный интерес представляют работы, посвященные изучению коллаген IV типа в качестве маркера ДН. Коллаген IV типа - это высокомолекулярный белок, который относится к группе нефибриллярных коллагенов, способных формировать сетевидные структуры, и является основным компонентом гломерулярной базальной мембраны и мезангиального матрикса клубочков почек. Между тем известно, что уровень коллагена IV типа в моче повышен при различных патологиях почек, в частности, при диабетической нефропатии [105].

Активация при СД ряда иммуновоспалительных, гемодинамических, метаболических и профиброгенных факторов приводит к патологическому накоплению коллагена IV типа в клубочках и развитию склероза [9]. Концентрация коллагена IV типа в моче значительно выше у больных СД2 по сравнению со здоровыми людьми [106], [107], при этом установлено, что повышение его экскреции указывает на высокий риск снижения СКФ [108], а его уровень в моче коррелирует с отложением коллагена IV типа в почках [109].

У больных СД уровень коллагена IV типа в моче значительно повышен при микроальбуминурии или выраженной протеинурии по сравнению с пациентами с нормоальбуминурией. Было выявлено, что уровень мочевой экскреции коллагена постепенно нарастает по мере прогрессирования ДН [110], [107]. Кроме того, показано, что риск прогрессии заболевания и микроальбуминурии выше у больных диабетом с нормоальбуминурией и повышенными уровнем коллагена IV типа в моче [111].

По мнению некоторых исследователей, накопление коллагена IV типа является характерным признаком именно для диабетического гломерулосклероза, чем для гломерулопатий другой этиологии [9].Многие авторы считают, что коллаген IV типа может являться более специфическим белком в диагностике ДН , по сравнению с альбумином , который также может повышаться и при ряде других патологий: сердечно-сосудистых заболеваниях, артериальной гипертензии итд. [112], [113], [39].

В Японии повышенный уровень коллагена IV типа в моче является одним из пяти диагностических критериев, позволяющих определить ДН на начальных стадиях развития [114].

Интенсивная терапия ДН может замедлить рост концентрации коллагена IV типа в моче у больных диабетом. Это указывает на возможность использования коллагена IV типа в моче для оценки воздействия на почки новых методов терапии. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что коллаген IV типа может являться полезным маркером при изучении ДН [115].

Тканевой ингибитор матричной металлопротеиназы -1 (TIMP-1)

Матриксные металлопротеиназы (MMP) образуют семейство цинк -зависимых эндопептидаз, обладающих внеклеточной активностью. Семейство MMP обладает способностью разрушать компоненты внеклеточного матрикса , такие как коллаген, эластин, желатин и казеин [116]. В норме MMP продуцируются в соединительных тканях и, предположительно, участвуют в ремоделировании ткани в процессах развития и репарации при повреждении тканей. При патологии они могут разрушать микроокружение в соединительных тканях. Лейкоциты, большей частью макрофаги, являются основным источником MMP, что позволяет экстравазацию и проникновение лейкоцитов в ткани. Эти процессы являются важным этапом развития воспалительного процесса [117].

К настоящему времени выявлено более 20 различных MMP, которые в соответствии с их различными функциями можно разделить на коллагеназы (например, MMP-1), желатиназы (MMP-2 и MMP-9), стромелизины (например, MMP- 3 и MMP-10), матрилизины и другие. Эти ферменты могут экскретироваться с помощью различных клеток (например, фибробластов, эндотелиальных клеток, моноцитов и макрофагов) или могут быть включены в клеточную мембрану. Увеличение активности MMP было ассоциировано с увеличением ремоделирования внеклеточного матрикса и его патологической реорганизацией при атеросклерозе, формировании аневризмы [118] и при ДН [119].

Тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMP) – это белки, существующие в организме, специфически ингибирующие MMP [116], таким образом поддерживающие баланс между деструкцией и формированием матрикса. Имеются четыре известных TIMP (TIMP 1-4). Все TIMP состоят из двух доменов, фиксируемых шестью дисульфидными связями. Один домен в основном ответственен за ингибирование, в то время как другой домен может связываться с прожелатиназами, а также стимулировать клеточную пролиферацию [120]. TIMP является биомаркером ремоделирования внеклеточного матрикса и тубулоинтерстициального фиброза [121].

В эксперименте у животных TIMP-1 обнаруживался в моче еще до классических биомаркеров ДН, таких как альбуминурия, что позволило исследователям сделать выводы о преимуществе нового показателя по сравнению с мочевым альбумином и предложить его в качестве более раннего маркера для диагностики ДН [48].

При СД 1 типа было обнаружено, что гипергликемия и эндотелиальная дисфункция ассоциируются с более высокими плазменными и тканевыми уровнями MMP и TIMP [122]. Также была выявлена корреляционная взаимосвязь TIMP-1 с макроальбинурией. Эти результаты отражают возможную роль TIMP-1 в увеличении фиброза почек при ранней ДН [123].

В исследовании Ishimura et al. у больных СД2 уровни TIMP в крови повышались на стадии микроальбуминурии и протеинурии [124].

1.3.3. Маркеры подоцитарной дисфункции

Подоциты (висцеральные эпителиальные клетки) – ключевые структурные элементы гломерулярного фильтра, являются третьим внешним слоем клубочкового капилляра [9]. «Ножки» подоцитов покрывают капилляры, оставляя щели. Кровь фильтруется через эти щели, известные как фильтрационные щели, не пропуская крупные молекулы, такие как белки, и пропуская небольшие молекулы, такие как молекулы воды, креатинина, аминокислот, глюкозы, мочевины, низкомолекулярных комплексов и свободных ионов, формируя таким образом клубочковый ультрафильтрат (первичную мочу). Подоциты выполняют широкий набор важных функций и приспособительных реакций в физиологических условиях: обеспечивают синтез некоторых белков базальной мембраны клубочка (БМК), регулируют растяжимость клубочкового капилляра и ограничивают прохождение отрицательно заряженных белков через щелевую диафрагму. В то же время клетки подоцитов очень чувствительны к воздействию различных патогенных факторов: гемодинамических, токсических, метаболических, которые приводят к структурно-функциональным изменениям – «подоцитопатиям»[125], [126], [127], [128].

Признаками подоцитопатии являются сглаживание ножек подоцитов с нарушением проницаемости щелевидной диафрагмы, гипертрофия, апоптоз, отслоение подоцитов от БМК со слущиванием их в мочевое пространство и появлением в моче как целых клеток (подоцитурия), так и его структурных белков (нефрина, подоцина и др.), уменьшение количества подоцитов в клубочке (подоцитопения) [125]. Развитие подоцитурии рассматривается в качестве маркера повреждения почечного фильтра [9]. Степень выраженности сглаживания ножковых отростков подоцитов имеет прямую корреляцию со степенью АУ при СД1 и СД2, что подтверждается множеством экспериментальных и клинических работ [126], [129], [130].

По данным Nakimura T. et al. подоциты в моче выявлялись у 53% больных СД2 с МАУ и у 80% больных СД2 с ПУ [131]. При потере связи с БМК подоциты вследствие нарушения клеточно-матриксных взаимосвязей погибают. Хотя была продемонстрирована возможность слущивания в мочу еще жизнеспособных подоцитов [132], [125].

Еще один механизмом утраты подоцитов при ДН является апоптоз, активирующийся при интенсивном и/или длительном воздействии повреждающего фактора. Апоптоз в подоцитах активируют АТ1-рецепторы, ангиотензин II (АТ-II), активные кислородные радикалы,

трансформирующий фактор роста β1 (TGF-β1), Smad-7, механическое растяжение, отслоение от БМК, основной фактор роста фибробластов, снижение ингибиторов, активированных циклических киназ – p27 и p21, апоптоз-индуцирующий фактор. Антиапоптотическими факторами являются подоцитарные белки, нефрин и CD2AP, сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), циклин I, сохранные клеточно-клеточные контакты, фактор роста гепатоцитов, инсулиноподобный фактор, белок теплового шока 27, внутриклеточный ингибитор апоптоза Bcl-2 и др.[125], [133], [134].

Нефрин

Нефрин - трансмембранный белок подоцитов, относящийся к иммуноглобулиновому семейству молекул адгезии, основной белок щелевой диафрагмы [135], состоящий из 1241 амино-кислотного остатка с молекулярной массой 185 кДа [136], [137]. Его экстрацеллюлярные домены контактируют друг с другом, образуя единый слой. Белок необходим для формирования структуры фенестрированной мембраны – основного компонента почечного фильтра (порообразующий белок). Нефрин формирует комплексы с другими протеинами: подоцином и молекулой CD2AP[138]. При целостности пор через барьер не могут пройти крупные белковые молекулы, например, сывороточный альбумин.

Мутации гена, ответственного за синтез нефрина, приводят к развитию подоцитопатии, которой отводится ключевая роль в генезе протеинурии. Мутация проявляется врожденным нефротическим синдромом финского типа. Это аутосомно-рецессивное заболевание. В основе лежит мутация гена NPHS1, ответственного за синтез нефрина [137], [136]. Кроме того, мутации гена нефрина встречаются в 50-75% случаев изолированного нефротического синдрома нефинского типа [139], [140]. Выявленные мутации гена NPHS1, ответственного за возникновение протеинурии в случае врожденного нефротического синдрома финского типа [136], приводят к нарушению синтеза нефрина, которое также может наблюдаться как при других формах нефротического синдрома у людей [141], [142],[143] так и в экспериментальной модели нефропатии человека у животных [144].

Эти данные подтверждают значимость нефрина как обязательного компонента щелевой мембраны, участвующего в деятельности фильтрационного барьера гломерул [145], [146], [147].

Нарушения в структуре как самого нефрина, так и ассоциированного с ним белкового комплекса приводят к изменениям архитектоники подоцита – сглаживанию «ножек» и протеинурии [148], [149]. Подобные признаки подоцитопатии с нефринурией обнаруживаются и при СД [150], [151], [152].

Исследования Jim B. et al. показали, что нефринурия выявлялась у 100% больных СД2 с ПУ и МАУ и у 54% больных с нормоальбуминурией [152]. При изучении биоптатов почек у животных

моделей и у больных с СД было выявлено уменьшение экспрессии нефрина в клубочках, установлена взаимосвязь этих нарушений со структурными изменениями ножковых отростков подоцитов [133], [153], [149], [150].

Индуцированная гипергликемией активация ренин-ангиотензиновой системы (РАС) и повышение уровня ангиотензина II способствуют количественным и функциональным нарушениям подоцитов и снижению экспрессии вырабатываемого ими нефрина [154]. Усиленная экскреция нефрина с мочой позволяет судить о подоцитопатии у больных СД и корректировать функцию нефрина и связанную с ней почечную фильтрацию ингибиторами РАС.

Снижение экспрессии нефрина может быть предупреждено блокированием РАС [155], что отмечалось как у больных с ДН, так и в эксперименте на животных моделях [156], [154], [157]. Таким образом, с нефрином может быть связано нефропротективное действие лекарственных препаратов, блокирующих синтез или активность ангиотензина II [154].

Подоцин

Подоцин – это интегральный мембранный белок с молекулярной массой 42 кДа., является структурным белком гломерулярных подоцитов , которому отводится ключевая роль в поддержании целостности щелевой диафрагмы [158] и, соответственно, барьера гломерулярной мембраны [159]. Подоцин, на подобие «шпильки» (hairpin-like structure)[160], замыкает нефрин в подоцитах, таким образом, входя в единую структуру щелевой диафрагмы [161], [145] и подобно нефрину и белку CD2AP связан с ней липидными мостиками [138].

Подоцин участвует в регуляции клубочковой проницаемости и выступает в качестве линкера (связующего агента) между плазматической мембраной и цитоскелетом. Исследования показали, что подоцин активирует нефрин посредством сигнала протеинкиназы, включающей, в свою очередь, p38 и c-jun аминотерминальной киназы, участвующей в регуляции формирования белкового активатора-1 [162]. Его кодирует ген NPHS2. Дефекты гена являются причиной аутосомно-рецессивного стероид-резистентного нефротического синдрома (SRN). SRN характеризуется развитием в срок от трех месяцев до пяти лет устойчивости к терапии стероидами и быстрым прогрессированием терминальной стадии почечной недостаточности [163].

1.3.4. Маркер тубулярного и гломерулярного повреждения

Цистатин С

Цистатин С – это полипептид, состоящий из 120 аминокислотных остатков, с молекулярной массой 13,26 кДа [164] и относящийся к семейству ингибиторов цистеиновых протеиназ. Цистатин

С с постоянной скоростью синтезируется всеми клетками, содержащими ядра; свободно фильтруется через клубочковую мембрану; полностью метаболизируется в почках; не секретируется проксимальными почечными канальцами [165], [166], [167], [168], [169]. Являясь ингибитором цистеиновых протеиназ, он блокирует их активность и тем самым осуществляемую ими деградацию внеклеточного матрикса. Таким образом, он стимулирует синтез или распад внеклеточных структур: в стенках сосудов (атеросклероз); при ремоделировании миокарда (сердечная недостаточность, острый коронарный синдром); при инвазии злокачественных опухолей [170], [171].

Исследования показали , что уровень Цистатин С в крови меньше зависит от возраста, пола и мышечной массы по сравнению с креатинином сыворотки [172], [173], в то же время на него могут оказывать влияние таки факторы как курение, потребление алкоголя, ИМТ, уровень тиреоидных гормонов и применение кортикостероидов [36], [174], [175].

Уровень цистатина С, как маркера СКФ, изучался более 25 лет [176] . Последовательно было установлено, что он имеет более высокую корреляцию с СКФ, измеряемую с помощью "золотого стандарта", по сравнению с креатинином [29] и предложены формулы для расчета СКФ по цистатину С [30], [33], [31], [177]. Как маркер СКФ сывороточный цистатин С превосходит сывороточный креатинин и клиренс креатинина, так как способен: диагностировать самые ранние изменения СКФ (гиперфильтрацию при АГ и ДН, ранние стадии гипофильтрации) [178], [179], [180], [181]; отслеживать быстрые изменения СКФ при развитии ОПН; точно оценивать ренальные функции у педиатрических и гериатрических пациентов; [182] прогнозировать сердечно-сосудистые осложнения [170], [183], [184].

Hojs, R и др в результате обследования 592 взрослых пациентов с ХБП установил, что сывороточный цистатин С является надежным маркером СКФ с высокой диагностической точностью и способностью выявлять пациентов с ХБП и СКФ ниже 60 мл/мин/1,73 м2. [33]. Исследование M.Mussap et al. показало , что Цистатин С может рассматриваться в качестве альтернативного и более точного маркера, чем креатинин для определения раннего развития нефропатии при СД2 [185].Сходные данные были получены и в других исследованиях, где авторы делают заключение, что цистатин С – достаточно надежный маркер для скрининга и оценки ренальных нарушений, по сравнению с креатинином у пациентов с СД [186], [187], [188].

При наблюдении 106 пациентов с СД 2 значения СКФ по цистатину С, вычисленные по разным формулам, сравнивали со значениями СКФ по креатинину (MDRD) и со значениями изотопного СКФ ^{51}Cr-ЭДТА - «золотому стандарту». Авторы приходят к выводу, что эффективность расчета СКФ по цистатину С превосходит оценку СКФ по MDRD у больных СД2 с нормоальбинурией и рекомендуют оценивать СКФ по цистатину С у лиц с повышенным риском развития ХБП [189].

Исследование, проведенное B.Perkins et al. выявило, что последовательное определение Цистатина С у пациентов с нормальным и повышенным СКФ позволяет определить начало раннего снижения почечной функции и предотвратить ХБП у больных СД2, для которых гиперфильтрация является характерной чертой на ранних стадиях почечных осложнений [178].

Известно, что цистатин С свободно фильтруется клубочками почек, а затем подвергается полной канальцевой реабсорбции и метаболизму, при этом не секретируется проксимальными почечными канальцами, и поэтому при нарушении функции канальцев, концентрация цистатина С в моче (u- Цистатина С) может возрастать в 150 раз, особенно, многократное повышение характерно для острого повреждения почек [190], [191], [192]. В некоторых исследованиях было показано, что концентрация Цистатина С в моче у человека остается практически постоянной в течении суток [193] и не зависит ни от пола, ни от возраста [194].

Целью исследования K Uchida et al. являлась попытка ответить на вопрос, может ли концентрация u-Цистатина С использоваться как маркер функции почек? Авторы приходят к выводу, что уровни цистатина С в моче не зависят от мышечной массы и возраста, а соотношение u-Цистатина С и Креатинина в моче (CCR) является показателем, определяющим эффективность реабсорбции Цистатина С в проксимальных канальцах. Таким образом, CCR может рассматриваться как маркер тубулярной дисфункции, а при его нормальных показателях, концентрация в моче цистатина С будет точно отражать функцию клубочковой фильтрации [195].

Исследование M.Conti et al. показало, что повышенные концентрации цистатина С в моче, позволяют точно обнаруживать тубулярные дисфункции среди чистых и смешанных нефропатий, что позволяет использовать данный маркер для скрининга ренальной патологии [196].

1.3.5. Факторы роста

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF)

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF, vascular endothelial growth factor) – гетеродимерный гликопротеиновый ростовой фактор, продуцируемый различными типами клеток. Наиболее важную роль в организме человека играет белок семейства VEGF, называемый VEGF-A. В данное семейство также входят плацентарный фактор роста (PGF) и белки VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D. Все они были обнаружены позже, чем VEGF-A (до их обнаружения белок VEGF-A назывался просто VEGF). VEGF-A – это гепарин-связывающий гликопротеин, секретируемый в виде гомодимера с молекулярной массой 45 кДа множеством клеток различных типов, регулирующий в основном сосудистый ангиогенез. Он способствует пролиферации, дифференцировке и миграции

эндотелиальных клеток [197] и осуществляет свое действие посредством тирозинкиназных рецепторов VEGFR1 и VEGFR2 [198]. VEGF-A является причиной вазодилатации через NO-синтетазный путь в эндотелиальных клетках , повышает проницаемость сосудов и может активировать синтез компонентов внеклеточного матрикса и пролиферации мезангиальных клеток [199], [200]. Транскрипция VEGF-A сильно активируется гипоксией и различными онкогенами.

В последние годы большое значение в развитии сосудистых осложнений СД, в том числе ДН, придается VEGF-A [201]. Диабетическая ретинопатия ассоциирована с высоким внутриглазным уровнем данного гликопротеина [202], [203]. В отличие от других тканей, которые прекращают экспрессию VEGF-A по завершении развития, подоциты и тубулярные клетки почек экспрессируют VEGF-A в течение всей жизни [204], [197]. Повышение продукции VEGF в почках при развитии нефропатии описано как в эксперименте у животных [9], так и у больных СД с ДН [205], [197]. Повышают экспрессию VEGF гипергликемия, цитокины (инсулиноподобный фактор роста, ангиотензин , фактор роста опухоли-бета, эпидермальный фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, интерлейкин-1и др.), простагландины, увеличение внутриклубочкового давления [206], недостаток NO, механический стресс, конечные продукты усиленного гликозилирования, протеинкиназа С, эндотелин, тромбоксан, хемокины [207].

Известно, что глюкоза прямо и косвенно стимулирует экспрессию VEGF-A в подоцитах через ангиотензин II и TGF-бета [208], [209], [210], который вместе с фактором роста соединительной ткани CTGF (connective tissue growth factor) приводит к утолщению БМК и гломерулосклерозу. В норме увеличение VEGF-A ингибирует экспрессию TGF-бета при помощи механизма отрицательной обратной связи. Напротив, увеличение VEGF-A при диабете ассоциировано с повышенным TGF-бета и CTGF, пролиферацией и накоплением белков в гломерулярном экстрацеллюлярном матриксе и фиброзом [211], [209]. На начальных стадиях ДН VEGF-A обнаруживается в различных клетках – эндотелиальных, мезангиальных, моноцитах, макрофагах, при тяжелых повреждениях почек VEGF-A экспрессируется почти всеми типами гломерулярных клеток [212], являясь ключевым фактором развития и прогрессирования ДН [213]. Усиленная пролиферация клеток, их миграция, снижение апоптоза приводит к гипертрофии клубочка, что сопровождается увеличением СКФ. Увеличение диаметра капилляров приводит к повышенному напряжению в капиллярной стенке и, как следствие, повреждению сосудов [206]. В норме процессы пролиферации и апоптоза взаимоуравновешены. При СД, за счет активации многих факторов вследствие гипергликемии и развития дисфункции эндотелия, равновесие сдвигается в сторону пролиферации [214].

1.4. Основные принципы профилактики и лечения ХБП при СД

В настоящее время профилактика и лечение ДН включает коррекцию метаболических и гемодинамических нарушений, в частности поддержание хорошего гликемического контроля (HbA1c <7%), нормализация системного АД (<130/80 мм рт.ст.), снижение внутриклубочковой гипертензии, устранение дислипидемии. Стандартными средствами, утвержденными всеми международными алгоритмами для лечения ДН, остаются блокаторы РАС: ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) и блокаторы рецепторов ангиотензина II (БРА), воздействующие на классические патогенетические механизмы ДН. Однако применение этих препаратов, несмотря на высокую эффективность в отношении АД, не всегда замедляет прогрессирование ДН. Многие пациенты (не менее 30%) по-прежнему, остаются в группе высокого риска, у которых продолжает снижаться функция почек. При длительном применении иАПФ не менее чем у 50% больных с ДН развивается «синдром ускользания», связанный с активацией альтернативных путей образования ангиотензина-2, что значимо снижает нефропротективный эффект этих препаратов. Одной из важных причин неэффективности данной терапии, помимо индивидуальной (возможно генетически детерминированной) резистентности к препаратам иАПФ и БРА, является позднее начало терапии. Терапия иАПФ, и БРА воздействует уже на развившийся клинический субстрат поражения почек – МАУ или протеинурию, и не применяется в отсутствие повышенной экскреции альбумина. С другой стороны, данные препараты воздействуют на очень важный, но далеко не единственный возможный механизм повреждения почек. Назначение лечение на более ранней стадии до развития МАУ позволяет предполагать высокую вероятность повышения эффективности лечения [215].

Одновременно с этим разрабатываются новые классы нефропротективных препаратов, прерывающие цепочку патологических изменений в почках, вызванных гипергликемией или другими факторами: блокаторы гликирования белков, ингибиторы протеинкиназы С, блокаторы ростовых факторов (анти-VEGF, анти-TGF-β, анти-CTGF), антагонисты эндотелина-1 и др. [1].

Сегодня остается нерешенным вопрос и о наиболее эффективных методах органопротекции при СД 2. Большой интерес ученых вызывает идея синтезировать препараты, которые, обладая сахароснижающим действием, одновременно оказывали бы и нефропротективное действие, не опосредованное контролем гликемии. Практически ни один из сахароснижающих препаратов, используемых до настоящего времени (метформин, препараты сульфонилмочевины, глиниды, глитазоны, инсулин), не оказывает защитного действия на почки [216]. Более того, все

перечисленные препараты (кроме инсулина) имеют ограничения по их применению при ХБП 3-4 стадии вследствие опасности их кумуляции и развития негативных эффектов.

1.4.1. Инкретины

Основной механизм регуляции гомеостаза глюкозы связан с секрецией инсулина, стимулируемой ее уровнем. Однако существует дополнительный механизм, характеризующийся участием в метаболизме глюкозы гормонов желудочно- кишечного тракта – глюкагоноподобного пептида 1 (ГПП-1) и глюкозозависимого инсулинотропного пептида (ГИП), что обусловило развитие сравнительно нового направления в лечении СД2 [217].

Первые печатные работы, говорящие о том, что в слизистой кишечника образуется фактор, способный стимулировать эндокринную часть поджелудочной железы, были опубликованы еще 112 лет назад [218]. В дальнейшем было проведено множество испытаний, которые объяснили механизм регуляции синтеза и секреции, способ действия веществ, известных сегодня как инкретины [219]. Научные поиски последних лет выявили значительную роль гормонов в регуляции углеводного обмена. Исследователи обнаружили, что наряду с непосредственным глюкозозависимым увеличением секреции инсулина и стимуляцией процессов его биосинтеза - этот процесс получил название «инкретинового эффекта», ГПП-1 также активирует дифференциацию и пролиферацию β-клеток, подавляет их апоптоз и индуцирует неогенез островковых клеток из клеток-предшественников [220]. У лиц без диабета инкретиновый эффект обеспечивает поддержание физиологического уровня глюкозы в крови после приема углеводов вне зависимости от количества принятой пищи, так как инкретины способны усиливать секрецию инсулина поджелудочной железой в соответствии с потребностью организма. Однако у больных СД2 инкретиновый эффект ослабевает или вовсе исчезает [219], [221]. Это открытие повлекло за собой разработку 2 принципиально новых сахароснижающих средств с уникальными свойствами — это препараты из группы инкретинов: агонисты глюканоподобного пептида-1 (ГПП-1) и ингибиторы дипептидилпептидазы 4 типа (ИДПП4) [222].

С помощью новых средств достигаются поставленные цели контроля гликемии без риска развития гипогликемии и прибавки массы тела, характерных для традиционных сахароснижающих средств (препаратов инсулинов, сульфонилмочевины, глитазонов).

В настоящее время на препараты из группы инкретинов возлагаются большие надежды, которые, вероятно, позволят сохранить непрерывно угасающую массу β-клеток поджелудочной железы и, тем самым, остановить прогрессирующий характер заболевания [223]. А благодаря своему

особому механизму действия аГПП-1 и ИДПП4 могут применяться как в виде монотерапии, так и в комбинации с традиционными сахароснижающими средствами [222]. На фоне терапии аГПП1 отмечается достоверное снижение выраженности ряда факторов сердечно-сосудистого риска – уровня АД и атерогенных фракций липидов. Определена эффективность и безопасность этих средств для лиц с нормальной функцией почек [224].

Применение данных препаратов при нарушениях функции почек зависит от стадии ХБП. Результаты последних исследований свидетельствуют о безопасности и эффективности применяемых сегодня ИДПП4 при монотерапии и присоединении к текущей сахароснижающей терапии у лиц со сниженной СКФ, сопоставимой с плацебо частотой нежелательных явлений, имеющих потенциальное отношение к самим препаратам, а также к функции почек, сердечно-сосудистой системы и частоте гипогликемий [3], [225], [226].

Одним из наиболее изученных в настоящее время гормоном-инкретином является глюкагоноподобный пептид 1 (ГПП-1). Местом синтеза этого гормона являются L-клетки слизистой подвздошной кишки. Детальное изучение эффектов ГПП-1 показало его непосредственное влияние не только на синтез инсулина поджелудочной железой, но и на ткань печени, желудка, мозга, сердечной мышцы. ГПП-1 вызывает глюкозозависимую стимуляцию секреции инсулина и глюкозозависимое подавление секреции глюкагона, что является механизмом защиты от развития гипогликемических состояний; вызывает снижение моторики желудка и всасывания глюкозы после еды, что является важным механизмом регуляции постпрандиальной гликемии; устраняет инсулино резистентность периферических тканей (мышц жировой ткани) и снижает продукцию глюкозы печенью; воздействует на ядра гипоталамуса, обеспечивая быстрое насыщение и снижение аппетита; оказывает благоприятные сердечно-сосудистые эффекты, снижая артериальное давление, увеличивая сердечный выброс и улучшая коронарный кровоток [227]. При СД2 наблюдается снижение эндогенной секреции ГПП-1, что, несомненно, влечет за собой нарушение инсулинового ответа на прием углеводов и, соответственно, увеличение уровня глюкозы крови [228]. В связи с обнаружением дефекта секреции инкретинов при СД2 усилия фармацевтических компаний были направлены на создание препаратов, восполняющих недостаток этих гормонов.

ИДПП4 – это препараты инкретинового ряда, ингибирующие фермент, расщепляющий ГПП1, тем самым повышая его уровень в крови до физиологических концентраций. ИДПП4 являются средствами 1-го ряда (наряду с метформином) при начале сахароснижающей терапии у лиц с исходным уровнем HbA1c 6,5–7,5% при СД2 [229]. По сравнению с другими сахароснижающими препаратами ИДПП4 при монотерапии показали меньший риск возможных побочных

гастроинтестинальных эффектов , а также гипогликемий, что делает его весьма привлекательными для контроля гликемии в условиях развивающейся почечной патологии [224].

ИДПП-4 могут назначаться при впервые выявленном СД2, являясь препаратом выбора у пожилых пациентов с выраженной сопутствующей патологией, а также с целью достижения хорошего гликемического контроля в составе двух- или трехкомпонентной сахароснижающей терапии, в том числе в комбинации с инсулином [230]. На сегодняшний день ИДПП4 заняли значимое место в отечественных и зарубежных рекомендациях по лечению больных СД2 типа.

Вилдаглиптин – второй препарат группы ИДДП-4, зарегистрированный в РФ для лечения больных СД2, является представителем высокоселективных ингибиторов ДПП4. Препарат распадается путем гидролиза, почечная экскреция вилдаглиптина составляет 85%, при этом в неизмененном виде – 25%. Вилдаглиптин способен повышать уровень ГПП-1 в плазме через 2 часа после приема пищи более чем в 5 раз [231].

В эксперименте на животных на фоне введения вилдаглиптина наблюдалось торможение развития гломерулосклероза, снижение экскреции альбумина с мочой, уменьшалась степень мезангиальной экспансии, определялось более высокие значения клиренса креатинина и значимое уменьшение ультраструктурных и гистологических признаков ДН по сравнению с животными, получавшими плацебо [232], [233], [234]. Протективные свойства вилдаглиптина показаны в моделях недиабетических нефропатий [235]. В эксперименте с ишемией-реперфузией почек у крыс линии Wistar-Han вилдаглиптин уменьшал степень повреждения и апоптоз в почках [236]. Гипотензивное, диуретическое и натрийуретическое действие вилдаглиптина продемонстрировано в модели сольчувствительных гипертензивных крыс Dahl [237]. В модели циклоспорин А-ассоциированной нефропатии вилдаглиптин продемонстрировал противовоспалительные, антиоксидантные и антиапоптотические эффекты [238].

В многоцентровом рандомизированном двойном слепом плацебо контролируемом исследовании по оценке безопасности, переносимости и эффективности подключения вилдаглиптина в дозе 50 мг 1 раз в сутки к текущей сахароснижающей терапии в течение 24 недель у 515 пациентов с СД и ХБП показана возможность применения препарата при снижении почечной функции. Большинство больных получали базовую терапию инсулином и, тем не менее, динамика HbA1c в группе пациентов, получавших вилдаглиптин, с СКФ (вычисленной по формуле MDRD) от ≥30 до <50 мл/мин/1,73 м2 составила 0,7±0,1%, в группе с СКФ <30 мл/мин/1,73 м2 – 0,9±0,2% со значимой разницей с соответствующими группами на плацебо. Между группами лечения в основном не было значимых различий в частоте нежелательных явлений (возможных при терапии ИДПП4 и касающихся функций почек, сердечно-сосудистых расстройств, частоты гипогликемий

[239],[224]. В другом плацебо-контролируемом исследовании, которое продолжалось 52 недели, было показано, что у больных СД2 с умеренной и тяжелой почечной недостаточностью, вилдаглиптин, добавленный в дозе 50 мг в сутки к текущей антидиабетической терапии, имел профиль безопасности, аналогичный плацебо, в течение 1 года наблюдения. Кроме того, по сравнению с плацебо, клинически значимое снижение HbA1c поддерживалось на протяжении 1 года лечения вилдаглиптином [240].

1.4.2. Нефропротектеция - потенциальные механизмы действия ингибиторов ДПП-4

В последние годы многие исследователи обсуждают наличие у препаратов инкретинового ряда плейотропных экстрапанкреатических эффектов, независимых от их сахароснижающего действия, и связывают их с наличием рецепторов ГПП-1, локализованных в экстра-панкреатических тканях, включающих почки и сердце, а также со способностью инкретинов снижать альбуминурию[241], маркеры оксидативного стресса, процессы воспаления в почечной ткани, усиливать натрийурез, подавлять активность РАС и умеренно снижать АД [242], [243].

Некоторые данные свидетельствуют о том, что ГПП-1 имеет прямые почечные и сердечные эффекты [3], [244]. Агонисты рецепторов ГПП1, помимо контроля глюкозы, могут косвенно способствовать нефропротекции: они уменьшают массу тела, вызывают сытость и влияют на желудочно-кишечную систему (перистальтику кишечника, секрецию экзокринных ферментов поджелудочной железы), а также сердечно-сосудистую систему (эндотелиальную функцию и функцию миокарда). Агонисты рецепторов ГПП-1 уменьшают массу тела, тогда как ИДПП4 особо не влияют на массу тела. В целом ингибиторы ИДПП4 улучшают почечную функцию в меньшей степени, чем это делают аГПП-1, путем улучшения факторов риска, связанных с весом, включая содержание и распределение жира в организме [40].

В эксперименте на животных применение иДПП4 показало уменьшение экскреции альбумина, маркеров оксидативного стресса, уменьшение экспрессии ряда провоспалительных факторов [245].

Плейотропный эффект ИДПП-4 на почку может реализовываться за счёт снижения деградации других гормоноподобных субстанций с вазоактивными, иммуномодулирующими, антиоксидантными свойствами. Имеются данные об ингибировании синтеза фиброгенных медиаторов и апоптоза нефроцитов на фоне приема препаратов данной группы.

Помимо воздействия на ГПП-1 и ГИП, ИДПП4 имеет ГПП-1 - независимые эффекты, связанных с действием фермента ДПП4, который является неспецифической протеазой и

расщепляет широкий спектр субстратов [246]. К субстратам ДПП4 относятся: мозговой натрийуретический пептид (BNP), предсердный натрийуретический пептид (ANP), нейропептид субстанция- P, нейропептид Y (NPY), пептид YY (PYY), стромального клеточного фактора-1 (SDF-1α), фермент меприн A и B и ядерный белок (HMGB1), многие из которых проявляют вазоактивные свойства, которые могут воздействовать на почки [216] (Рисунок 2).

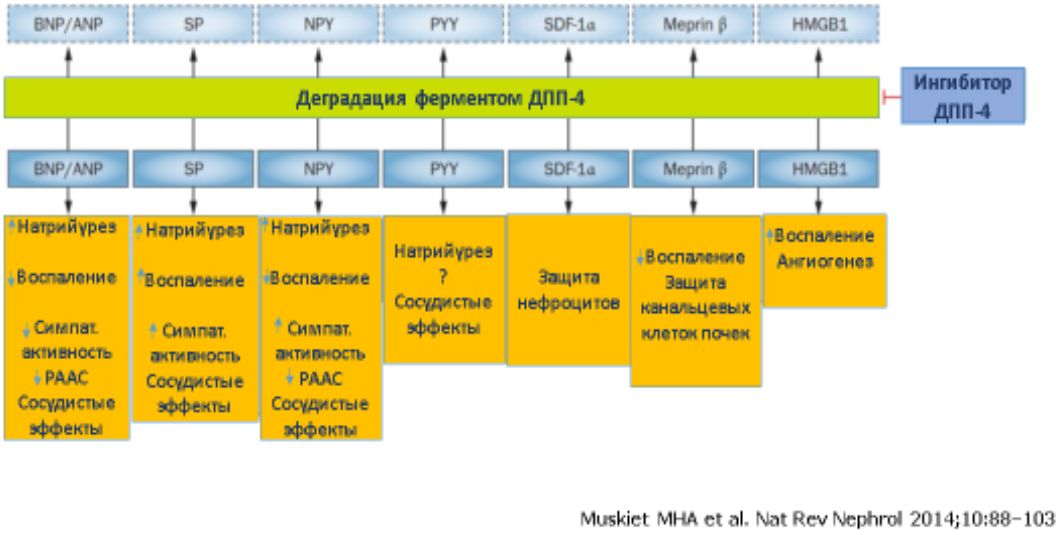


Рисунок 2. Потенциальные нефропротективные эффекты ИДПП4

Эффекты на почку ингибиторов ДПП-4 с преимущественно почечным путём элиминации также могут осуществляться при непосредственном контакте препарата с трансмембранной формой ДПП-4 на поверхности клеток проксимальных канальцев и капилляров клубочка [233]. ИДПП4 также экспрессируется на поверхности апикальной части клеток проксимальных извитых канальцев почек, оказывая независимое влияние на почки и сердечно-сосудистой систему, что было продемонстрировано в эксперементе на животных [247]. До настоящего времени нет научных работ, изучавших роль, полученных при воздействии ИДПП4, субстратов на почку in vivo, но доклинические фармакологические исследования демонстрируют почечные эффекты вышеупомянутых пептидов. В двух исследованиях субстраты ИДПП4 увеличивали натрийурез [248], [249], в другом исследовании было отмечено снижение РАС [250], выявлено

противовоспалительное действие [248] и снижение активности симпатической нервной системы [251], также были описаны прямые сосудистые эффекты этих субстратов[248], [252].

Один из предполагаемых нефропротективных механизмов действия ИДПП4 связывают с повышением натрийуреза. Считается, что это происходит за счет увеличения циркуляции SDF-1α, являющегося субстратом фермента ДПП4 и обладающего доказанными натрийуретическими свойствами. ИДПП4 предотвращает N-концевое расщепление и инактивацию интактной SDF-1α до усеченной SDF-1α, путем ингибирования протеолитической активности ДПП4, приводя к стимуляции транспортных ионных каналов , включающих Na + / Cl-тиазидные каналы в дистальных извитых канальцах нефрона и эпителиальные Na- каналы в эпителии собирательных трубочек коркового слоя почек [253]. В исследовании Tögel et al. было выявлено, что SDF-1α также увеличивался в ишемической ткани почек и играл важную роль в привлечении стволовых клеток к этим участкам, восстанавливая повреждения в следствии ишемии в почечной ткани лабораторных животных [254].

В настоящее время результаты только нескольких клинических исследований показывают, что терапия инкретинами может оказывать нефропротективное действие в организме человека.

Так применение агониста рецепторов ГПП-1 был связан со снижением альбуминурии у больных с СД2, однако этот эффект не было статистически значимым по сравнению с другими сахароснижающими препаратами такими как ситаглиптин и пиоглитазон[40].

В двух других небольших исследованиях при лечении ИДПП4 было выявлено снижение альбуминурии у пациентов с СД 2 [255], [256]. Эти данные были подтверждены и расширены в объединенном анализе исследований III фазы линаглиптина, который показал значительное снижение альбуминурии после 6 месяцев лечения [257].

Еще в одном исследовании лечения экзенатидом уменьшали как альбуминурию, так и мочевой уровень TGF и коллагена типа IV (по сравнению с лечением глимепиридом) у пациентов с СД2 [241].

После того, как было установлено увеличении сердечно-сосудистого риска при использовании росиглитазона, FDA инициировал исследования, изучающие влияние на сердечно-сосудистую систему в дополнение к оценке общей безопасности, препаратов, снижающих уровень глюкозы.

Два плацебо-контролируемых исследования, где применялись ИДПП4, были опубликованы. Эти исследования, включающие 2-летнее лечение алоглиптином [258] и саксаглиптином [259] продемонстрировали умеренное снижения прогрессирования альбуминурии у пациентов СД2, у большинства из которых в анамнезе были сердечно-сосудистые заболевания, при этом негативное влияние препаратов на сердечно-сосудистую систему не отмечалось.

Данные исследований на животных и у человека показывают, что терапия на основе инкретина может препятствовать началу и прогрессированию ХБП при СД2, измеряемое клиническими и гистологическими улучшениями. Терапия инкретинами может положительно влиять на гемодинамические переменные (гиперфильтрацию, гломерулярное капиллярное давление в почках и системное кровяное давление), метаболические факторы (гликемия, дислипидемия, окислительный стресс) и воспалительные факторы в патогенезе ХБП при СД2 [40].

Результаты опубликованных доклинических и клинических исследований предполагают, что иДПП4 могут иметь потенциал для использования не только в качестве сахароснижающей, но и нефропротективной терапии [216], [260], [3]. В настоящее время продолжаются крупные рандомизированные клинические исследования по изучению почечных эффектов этих препаратов [1].

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Дизайн исследования

Исследование проводилось на кафедре эндокринологии и диабетологии Педиатрического факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), расположенной на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России (директор – академик РАН И.И. Дедов) на базе Института диабета (директор академик РАН М.В. Шестакова), отделения диабетической болезни почек и посттрансплантационной реабилитации (зав. отделением д.м.н. М.Ш. Шамхалова). Клинические и биохимические исследования выполнялись на базе клинико-диагностической лаборатории ФГБУ НМИЦ эндокринологии (заведующий лабораторией к.м.н. Никанкина Лариса Вячеславовна) с 2013-2016 гг.

Диссертационная работа состояла из двух частей:

I. Одномоментное исследование биомаркеров крови и мочи у пациентов с сахарным диабетом 2 типа на различных стадиях хронической болезни почек.
II. Контролируемое проспективное нерандомизированное открытое исследование для оценки нефпропротективных эффектов иДПП-4 (вилдаглиптина) на основании динамики лабораторных биомаркеров и классических показателей почечной дисфункции через 6 месяцев.

2.1.1. Одномоментное исследование:

В I часть исследования было включено 136 человек, из них 96 пациентов с СД2, находившихся на лечении в ФГБУ НМИЦ эндокринологии в период времени с 2013-2016 гг., и удовлетворяющие критериям включения. Выборка была этнически однородна. В группу контроля было включено 40 человек без нарушений углеводного обмена, без АГ и других ССЗ, без заболевания почек, печени и ожирения, сопоставимая по полу и возрасту.

Все пациенты с СД 2 были распределены по уровню экскреции альбумина на 3 группы в соответствии с классификацией KDIGO:

A1 (0-20 мг/л) - пациенты с СД2 с «нормоальбуминурией», n= 54

A2 (21-200 мг/л) - пациенты с СД2 с «микроальбуминурией», n=26

A3 (>200 мг/л) - пациенты с СД2 с «макроальбуминурией», n=16

Всем участникам исследования проводилось общеклинические обследования, включающее исследование клинического анализа крови, мочи, биохимических показателей крови и коагулограммы. Оценивались показатели углеводного обмена и функции почек, а также проводилось исследование предполагаемых биомаркеров раннего диабетического повреждения почек в образцах плазмы крови (NGAL, KIM-1, цистатин С, остеопонтин, VEGF, TIMP-1) и мочи (уромодулин, NGAL, KIM-1, цистатин С, коллаген, нефрин, подоцин).

Дизайн одномоментного исследования представлен на Рисунок 3.

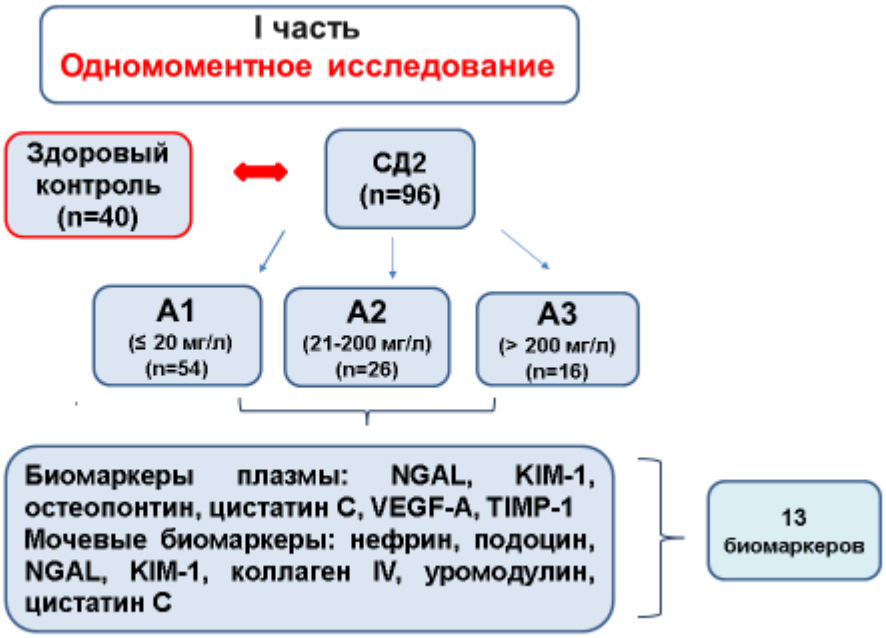


Рисунок 3. Дизайн одномоментного исследования.

2.1.2. Проспективное исследование:

Во II часть исследования были включены 54 пациента с СД2 из группы А1 с повышенными уровнями биомаркеров. Наблюдение длилось в течении 6 месяцев (27 недель ± 2недели). Из 54 пациентов - 50 завершили протокол полностью (1 человек прекратил прием препарата вне связи с медицинскими показаниями, 2 человек не смогли приехать на динамический контроль, у 1 отмечалось повышение печеночных трансаминаз более 2,5 норм).

Пациенты были разделены на две группы:

Группа терапии ИДПП4 состояла из 26 пациентов с СД2 из группы А1(с нормоальбуминурией) на стабильной сахароснижающей терапии и сопутствующей антигипертензивной и/или нефропротективной терапии. В группе терапии ИДПП4 пациентам был добавлен

ИДПП4(вилдаглиптин) в дозе 100 мг/сутки -внутрь по 50 мг 2 раза в сутки утром и вечером (первая таблетка препарата – вечером, в день визита 1, после ужина).

Группа контроля состояла из 24 пациентов с СД2 из группы А1(с нормоальбуминурией) на стабильной сахароснижающей и сопутствующей антигипертензивной и/или нефпротективной терапии. Пациенты из группы контроля продолжили предшествующую терапию без изменения в течение всего периода наблюдения.

Группы терапии и контроля были сопоставимы по антропометрическим данным и по основным клиническим показателям (уровню альбуминурии, степени компенсации (HbA1c), биохимическим параметрам). Через 6 месяцев всем участникам исследования повторно проводились общеклинические обследования: оценивались в динамике биохимические показатели крови, коагулограммы, исследовался углеводный обмен и функция почек. Также повторно были взяты образцы крови и мочи для определения биомаркеров раннего диабетического повреждения почек: (NGAL, KIM-1, цистатин С, остеопонтин, VEGF, TIMP-1, уромодулин, коллаген, нефрин, подоцин). На основании динамики лабораторных биомаркеров через 6 месяцев проводилась оценка нефропротективных эффектов иДПП4.

Дизайн проспективного исследования представлен на Рисунок 4.

Рисунок 4. Дизайн проспективного исследования

2.2. Критерии включения пациентов в исследование

1. СД 2
2. Возраст 18 - 75 лет
3. Гликированный гемоглобин (Hb A1c) <10,0 %
4. Сахароснижающая терапия любыми препаратами, кроме иДПП-4 и агонистов ГПП-1, в стабильной дозе в течение 3-х месяцев до включения в исследование.
5. Подписанное информированное согласие.

Особые указания:

1. Пациенты продолжали прежнюю сахароснижающую и антигипертензивную терапию ингибиторами АПФ (иАПФ) или блокаторами рецепторов ангиотензина II (БРА) на протяжении всего периода исследования с целью исключения возможного влияния на результаты других факторов. При развитии потребности в интенсификации данных видов терапии в период наблюдения пациенты исключались из исследования.
2. В группе пациентов с нормоальбуминурией (A1) - отсутствие терапии ингибиторами АПФ или блокаторами рецепторов ангиотензина II в течение 3-х месяцев до и на протяжении всего периода исследования.

2.3. Критерии исключения пациентов из исследования

1. Другие типы СД
2. Гликированный гемоглобин (HbAlc)> 10,0 %
3. ХБП 4-5 ст. (СКФ <30 мл/мин/1,73 м2 по формуле CKD-EPI), заместительная почечная терапия.
4. Сердечная недостаточность III-IV функциональных классов в соответствии с классификацией хронической сердечной недостаточности NYHA
5. Выраженное нарушение функции печени (повышение печеночных трансаминаз АЛТ и/или АСТ более 2,5 раз выше нормы) на фоне терапии, печеночная недостаточность
6. Для 2 части исследования: наличие абсолютных противопоказаний к терапии иДПП-4: наследственная непереносимость галактозы, недостаточность лактазы, глюкозо-галактозная мальабсорбция, повышенная чувствительность к действующему веществу и любым другим компонентам препарата.

Все пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен на заседании локального комитета по этике ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России от 13 ноября 2013 г. (протокол № 11-13).

2.4. Общеклинические методы исследования

Общеклиническое обследование пациентов включало: сбор жалоб, анамнестических данных (наличие перенесенных и детских инфекций, наличие соматических, наследственных, аутоиммунных заболеваний, время дебюта СД2), измерение АД, обследование органов кровообращения и дыхания, пальпацию живота, оценку наличия перитонеальных и почечных симптомов, определение наружных отеков. Измерение антропометрических показателей включало измерение массы тела, роста и вычисление ИМТ. Масса тела определялась в утреннее время натощак на электронных весах (HL120, компания Avere–Berkel, Великобритания). Рост определялся с помощью ростомера. Расчет индекса массы тела (ИМТ) производился по формуле отношения массы тела в килограммах к квадратному значению роста, выраженному в метрах (кг/м2).

Всем пациентам было проведено стандартное лабораторное обследование: исследование клинического анализа крови, общего анализа мочи, биохимических показателей (креатинина, мочевины, мочевая кислоты, альбумина, общего белка, С-реактивного белка, ХС, ЛПВП, ЛПНП, ТГ, АСТ, АЛТ) и коагулограммы (протромбиновое время, протромбин (по Квику), МНО, тромбиновое время, АЧТВ, фибриноген). Забор крови на исследования (клинические, биохимические и другие) – проводился из кубитальной вены строго натощак.

Для оценки компенсации углеводного обмена определялся уровень HbA1c методом жидкостной ионнообменной хроматографии под низким давлением на анализаторе «Diastat» («BioRad», США) с использованием набора того же производителя по унифицированной методике.

Общий анализ крови проводился на гематологическом автоматическом анализаторе «Sysmex XE-2100 D».

Физико-химические свойства мочи определялись на аппарате фирмы «ARKRAY Autin Max AX-4280» и микроскопически с использованием микроскопа Nikon Eclipse E 200.

Уровни липидов (ТГ, общего ХС, ЛПВП, ЛПНП), глюкозы, аминотрансфераз печени, С-реактивного белка, мочевины, мочевой кислоты, альбумина, общего белка определялись на автоматическом биохимическом анализаторе «Architect plus C 4000» («Abbott Diagnostics», США) по стандартным методикам с использованием реагентов производителя.

Для оценки функционального состояния почек всем участникам исследования проводился расчет СКФ по формуле CKD-EPI (мл/мин/1,73м2), который производился с помощью электронного онлайн-калькулятора (сайт http://www.mdrd.com) с использованием значений креатинина (мкмоль/л) и указанием возраста (полных лет), пола и расовой принадлежности.

Определение уровня креатинина в сыворотке крови проводилось на автоматическом биохимическом анализаторе «Architect plus C 4000» («Abbott Diagnostics», США) по стандартным методикам с использованием реагента производителя.

Показатели коагулограммы (протромбиновое время, протромбин (по Квику), МНО, тромбиновое время, АЧТВ, фибриноген) определялись на анализаторе гемостаза ACL Elite Pro.

Экскрецию альбумина с мочой, соотношение альбумин/креатинин определяли в утренней порции мочи иммунотурбидиметрическим методом с использованием стандартного набора фирмы Roche Diagnostics GmbH на автоматическом анализаторе «ARCHITECT Plus c 4000» по методике производителя.

2.5. Специальные методы исследования

Всем пациентам, включенным в исследование, проводился анализ крови и мочи для идентификации биомаркеров, ассоциированных с диабетическим повреждением почек при помощи иммуноферментного анализа (ELISA) с помощью стандартных наборов коммерческих тест-систем: Cusabio (нефрин), BioVendor (NGAL, цистатин C, уромодулин), BCM Diagnostics (коллаген IV типа), USCN (KIM-1, подоцин), eBioscience (VEGF-A, остеопонтин, TIMP-1) до начала исследования и через 6 месяцев после инициации терапии иДПП-4.

Анализ плазменных и мочевых биомаркеров проводился методом иммуноферментного анализа.

Образцы крови: забор крови осуществлялся натощак в пробирки с ЭДТА и далее центрифугировался со скоростью 1000 g в течение 30 минут на аппарате Beckman Counter Allegra GKR Centrifuge, затем аликвоты крови замораживались при температуре -20 º -80 º.

Образцы мочи: средняя порция утренней мочи собиралась в стерильные контейнеры и центрифугировалась в течение 15 минут со скоростью 1000 g на аппарате Beckman Counter Allegra GKR Centrifuge, затем аликвоты мочи замораживались при температуре -20 º -80 º.

Исследование включало следующие этапы: после оттаивания набора замороженных образцов и повторного центрифугирования проводилась последовательная инкубация исследуемых образцов крови и мочи с высокоспецифичными моноклональными антителами, адсорбированными на

твердой фазе, инкубация с антителами, коньюгированными с ферментной меткой, и субстратом до появления ферментативной реакции, сопровождающейся окрашиванием продукта. Оптическая плотность раствора окрашенного продукта измерялась при длине волны λ=450 нм с помощью планшетного спектрофотометра, учет результатов анализа с использованием пакета прикладных программ Curve Expert 1.3.

Вычисление концентраций производили с использованием ПО Workout 2,5 (Perkin Elmer).

Измерение оптической плотности производили Wallac 1420 Miiltilabel Counter (Victor 2) (Perkin Elmer).

Забор крови осуществлялся натощак, исследовалась утренняя порция мочи.

2.4. Статистический анализ результатов исследования

Полученные данные анализировались при помощи программы STATISTICA (StatSoft Version 13.0, USA) и MedCalc, версия 18.2.1. Сравнение показателей в изучаемых группах осуществляли при помощи U-критерия Манна–Уитни. Для описания распределения показателя определяли значения верхнего и нижнего квартилей Me [25% ÷ 75%], сравнение количественных данных в нескольких группах проводили с помощью критерия Крускала-Уоллиса с апостериорными попарными сравнениями (критерий Данна). Для исследования взаимосвязи между признаками использовался метод ранговой корреляции по Спирмену. Сравнение количественных данных внутри группы до и после лечения проводился с помощью W-критерия Вилкоксона.

Метод ROC –анализа использован для определения чувствительности и специфичности, изучаемых ПБ. Положительные и отрицательные предсказательные значения для теста определялись с помощью теоремы Байеса. Критерием выбора оптимального порога отсечения являлось достижение максимального значения индекса Юдена (Youdens Index). Сравнительная оценка информативности двух методов диагностики проводилась при помощи теста Делонга. Уровень значимости для всех проверяемых гипотез $p < 0,05$.

Этическая экспертиза

Исследование одобрено протоколом ЛЭК № 11-13 ГБОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова от 13.11.2013 года.

Глава III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Результаты одномоментного исследования

Оценка диагностической значимости биомаркеров у пациентов с СД2 проводилась в несколько этапов. Алгоритм оценки диагностической значимости потенциальных биомаркеров ХБП у пациентов с СД2:

1. Диагностические различия и корреляция с традиционными маркерами ХБП (АУ, СКФ).
2. Оценка чувствительности и специфичности биомаркеров по сравнению с АУ.
3. Определение диагностического порога отсечения cut-off (норма по сравнению с патологией) для диагностики ХБП при СД2.
4. Выделение для стадии А1 комбинации биомаркеров с максимальными показателями на всех предыдущих этапах.

Клиническая характеристика основных показателей обследованных больных с СД2 и здорового контроля представлена в

Таблица 1.

Таблица 1. Характеристика обследованных пациентов с СД2 и здорового контроля (МЕ [25;75], %). Данные представлены: Me [25 процентиль; 75 процентиль], %.

	Контроль (n-40)	**А1 (n = 54)**	**А2 (n=26)**	**А3 (n = 16)**	**p**
возраст	61,97 [54,86;69,11]	64,0 [53,00; 69,0]	64,20 [54,80; 68,78]	63,90 [61,23; 67,73]	p0,736* p^{Δ} 0,061
Длительность СД2, лет	-	10,51 [4,5; 14,5]	11,0 [5,00; 16,5]	18,5 [12,5; 22,0]	p0,071** p0,034 ***
HbA1c, %	5,60 [5,30; 5,90]	8,20 [7,00; 9,40]	8,90 [7,9; 9,80]	8,50 [7,75; 9,35]	p0,093*
ИМТ, кг/м2	29,9 [27,84;3,99]	31,75 [27,76; 35,56]	31,79 [28,94; 41,49]	32,73 [28,87; 36,57]	p0,326* p^{Δ} 0,067
АД сист, мм рт. ст.	120,00 [117,50; 125,00]	130,00 [130,00;145,00]	135,00 [127,50; 147,50]	142,50 [130,00; 155,00]	p0,223** p0,089***
АД диаст, мм рт. ст.	80,00 [77,50;82,50]	80,00 [76,00; 90,00]	80,00 [80,00; 90,00]	80,00 [80,00; 90,00]	p0,446 *
ХС, ммоль/л	6,80 [5,90; 7,10]	5,34 [4,51; 6,73]	5,28 [4,37; 6,40]	5,05 [4,11; 5,79]	p0,699*

ТГ, ммоль/л	1,40 [0,80; 2,00]	2,00 [1,27; 2,36]	2,30 [1,53; 3,19]	2,28 [1,60; 4,01]	p0,296*
ХС ЛПНП, ммоль/л	4,30 [3,70; 5,00]	3,32 [2,48; 4,00]	3,10 [2,40; 4,20]	2,91[2,50; 3,50]	p0,074*
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,57 [1,20; 1,72]	1,08 [0,97; 1,29]	1,29 [1,00; 1,41]	0,99 [0,87; 1,46]	p0,073*
Мочевина, ммоль/л	5,20 [4,50; 6,30]	5,50 [4,90; 6,40]	6,00 [4,80; 8,70]	9,30 [6,50; 11,50]	p0,067*
Мочевая кислота, мкмоль/л	338,00 [281,80; 406,60]	343,00 [283,49; 404,00]	371,00 [278,20; 434,00]	433,19 [365,15; 471,46]	p0,081*
Креатинин, мкмоль/л	71,80 [65,60; 75,40]	69,80 [61,10; 76,40]	77,15 [67,25;109,05]	102,20 [72,70; 136,20]	p0,069** p0,056*** p^{Δ} 0,999
СКФ(EPI), мл/мин/1,73м^2	89,00 [79,00; 97,00]	89,50 [75,00; 98,00]	72,50 [60,00; 94,00]	58,00 [43,00; 93,00]	p 0,094** p 0,077*** p^{Δ} 0,999
альбуминурия, мг/л	6,00 [4,00;11,00]	9,00 [6,00; 12,00]	31,00 [22,50; 44,50]	327,50 [232,50; 650,20]	p 0,021** p 0,001*** p^{Δ} 0,999
Альбумин/креатинин, мг/ммоль	0,72 [0,46; 1,25]	1,25 [0,81; 1,77]	3,56 [2,10; 6,13]	65,06 [41,00; 95,84]	p 0,027** p<0,001*** p^{Δ} 0,126

*сравнение количественных данных в нескольких группах у пациентов с СД2 проводили с помощью критерия Крускала-Уоллиса.

** Сравнение между группами А1-А2.

*** Сравнение между группами А2-А3.

$^{\Delta}$ при сравнении группы контроля и А1.

Апостериорные попарные сравнения между группами производились при помощи критерия Данна).

Пациенты из группы СД были сопоставимы по основным клиническим параметрам: возрасту, ИМТ, уровням гликированного гемоглобина, группы отличались по заданному дизайном - уровню альбуминурии. Лица из группы контроля были сопоставимы с пациентами с СД по возрасту, ИМТ, СКФ и АУ для группы А1. Клиническая характеристика больных СД2 типа (одномоментное исследование), наличие сердечно-сосудистых осложнений и сопутствующих заболеваний представлены в таблице 2.

Таблица 2. Клиническая характеристика больных СД2 типа (одномоментное исследование), наличие сердечно- сосудистых осложнений и сопутствующих заболеваний.

Параметр	n- 96 (%)
Артериальная гипертония, %	82(85,4%)
Ишемическая болезнь сердца, %	36(37,5%)
Инфаркт миокарда, %	12(12,5%)
Острое нарушение мозгового кровообращения, %	2 (1,8%)
Дислипидемия, %	92(95,8%)
Хроническая мочеполовая инфекция, %	12(12,5%)
Гиперурикемия, %	46 (47,9%)

Исходная терапия пациентов с СД2, включенных в одномоментную часть исследования представлена в Таблица 3.

Таблица 3. Исходная терапия пациентов с СД2, включенных в одномоментную часть исследования.

Терапия	n-96 (%)
ПССП -всего	39 (40,9%)
Метформин - моно	20 (20,5%)
СМ + Метформин	20 (20,5%)
Инсулин -всего	57 (59,1%)
Инсулин - моно	11 (11,4%)
+ Метформин/СМ	46 (47,7%)
Другая терапия	
Статины	92(95,8%)
Аспирин	76(79,2%)
иАПФ	59(61,5%)
БРА	24(25,0%)

Диагностические различия и корреляция с традиционными маркерами ХБП (АУ, СКФ).

Показатели уровня мочевых и плазменных биомаркеров представлены в сводной Таблица 4.

Таблица 4. Уровень мочевых и плазменных биомаркеров, ассоциированных с диабетическим повреждением почек, на разных стадиях ХБП у пациентов с СД2 и в группе здорового контроля (ME [25;75], %).

Показатели мочи	Контроль (n-40)	A1 (n = 54)	A2 (n=26)	A3 (n = 16)	p (Kryskal-W)
нефрин, нг/мл	0,12 [0,06;0,21]	0,38 [0,25;0,66]	0,48 [0,28;0,90]	0,24 [0,15;0,31]	p*<0,001 p**<0,001
нефрин/креат, мкг/ммоль	0,02 [0,00;0,03]	0,07 [0,03;0,19]	0,13 [0,05;0,19]	0,04 [0,02;0,05]	p*<0,001 p**<0,001
NGAL, нг/мл	1,29 [0,66;1,86]	1,73 [1,38;3,88]	5,55 [2,29;9,37]	6,04 [3,90;15,92]	p*<0,001 p^{Δ} <0,001
NGAL /креат, мкг/ммоль	0,12 [0,06;0,20]	0,39 [0,21;0,76]	0,74 [0,39;1,04]	0,93 [0,51;2,49]	p* <0,001 p** 0,002
цистатин С, нг/мл	0,24 [0,15;0,30]	0,88 [0,45;1,64]	1,65 [0,68;2,06]]	2,51 [1,79;3,26]	p*<0,001 p** 0,003
цистатин С/креат, мг/ммоль	0,03 [0,02;0,04]	0,14 [0,08;0,21]	0,17 [0,10;0,23]	0,33 [0,20;0,60]	p*<0,001 p** 0,001
уромодулин, нг/мл	3324 [2385;9102]	2118 [1206;2743]	1796 [1194;1902]	1496 [896;1760]	p*<0,001 p** 0,023
уромод /креат, мкг/ммоль	418,87 [217,42;1247,55]	58,19 [154,84;526,37]	215,18 [139,48; 417,58]	252,39[120,59;313,73]	p 0,074*
подоцин, нг/мл	0,28 [0,13;0,67]	0,19 [0,13;0,33]	0,72 [0,43;1,14]	0,18 [0,10;0,66]	p*<0,001 p^{Δ} 0,027
подоцин/креат, мкг/ммоль	0,04 [0,01;0,05]	0,03 [0,02;0,06]	0,08 [0,06;0,17]	0,02 [0,01;0,06]	p* 0,047 p^{Δ} 0,022
KIM-1, нг/мл	0,58 [0,34;0,87]	0,45 [0,27;0,61]	0,75 [0,59;2,26]	2,30 [0,85;4,08]	p*<0,001 p** 0,999
KIM-1 /креат, мкг/ммоль	0,07[0,03;0,09]	0,08 [0,21;0,76]	0,15 [0,07;0,24]	0,33 [0,11;0,56]	p*<0,001 p^{Δ} 0,02

коллаген, мкг/л	2,88 [2,20;3,44]	1,75 [1,10;2,67]	1,56 [0,71;3,57]	3,74 [2,85;4,97]	p 0,001* p 0,193*
коллаген IV/креат, мкг/ммоль	0,40 [0,29;0,49]	0,30 [0,20;0,36]	0,20 [0,11;0,27]	0,55 [0,43;0,76]	p*<0,001 p$^{\Delta}$ 0,050
Показатели плазмы	Контроль (n-40)	A1 (n = 54)	A2 (n=26)	A3 (n = 16)	p (Kryskal-W)
Цистатин С, нг/мл	0,77[0,69;0,99]	1,06[0,91;1,32]	1,17[1,00;1,75]	1,19 [1,12;1,64]	p*<0,001 p**<0,001
VEGF-A, пг/мл	52,23 [22,36;68,73]	101,44 [47,71;151,61]	115,57 [69,79;240,48]	56,02 [32,85;74,95]	p*<0,001 p** 0,015
NGAL, нг/мл	26,63[21,87;45,63]	27,57[20,22;36,36]	49,82[31,47;74,57]	68,10[32,22;198,78	p*<0,001 pΔ 0,011
KIM-1, нг/мл	100,80 [68,61;1029,85]	160,18 [68,81;415,14]	287,21 [187,27;636,57]	686,19 [320,22;1262,51]	p* 0,002 p**0,999
остеопонтин,нг/мл	59,31 [53,14;77,93]	97,43 [55,87;134,07]	81,42 [63,81;118,39]	123,71 [97,73;156,93]	p* 0,022 p** 0,065
TIMP, нг/мл	170,67 [122,69;253,85]	209,14 [156,06;304,65]	109,43 [43,77;205,25]	217,52 [99,50;294,22]	p* 0,038 p**0,892

*сравнение количественных данных в нескольких группах проводили с помощью критерия Крускала-Уоллиса.

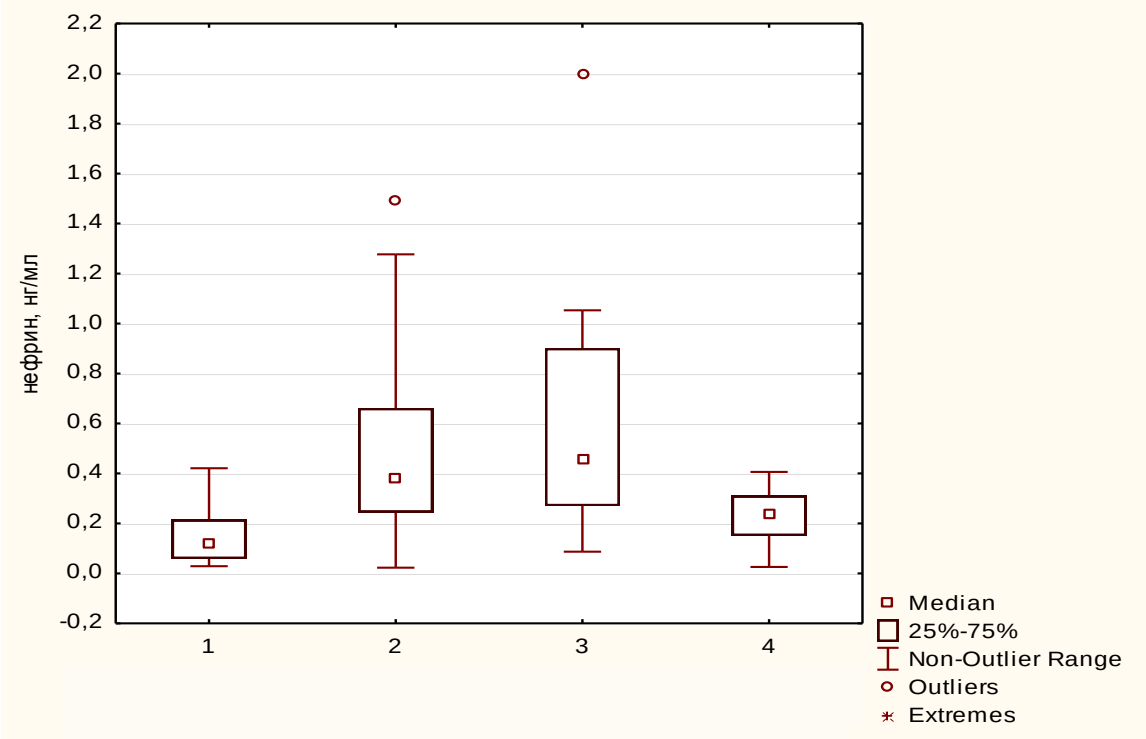
** при сравнении группы контроля и А1 (апостериорные попарные сравнения между группами производились при помощи критерия Данна).

$^{\Delta}$ при сравнении группы контроля и А2 (апостериорные попарные сравнения между группами производились при помощи критерия Данна).

По аналогии с уровнем АУ мы оценивали не только уровень самого маркера, но его соотношение с креатинином, что в некоторых случаях повышало диагностическую значимость биомаркеров.

Диагностические различия мочевых биомаркеров

На Рисунок 5 представлено содержание нефрина в моче у больных СД 2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (нг/мл).



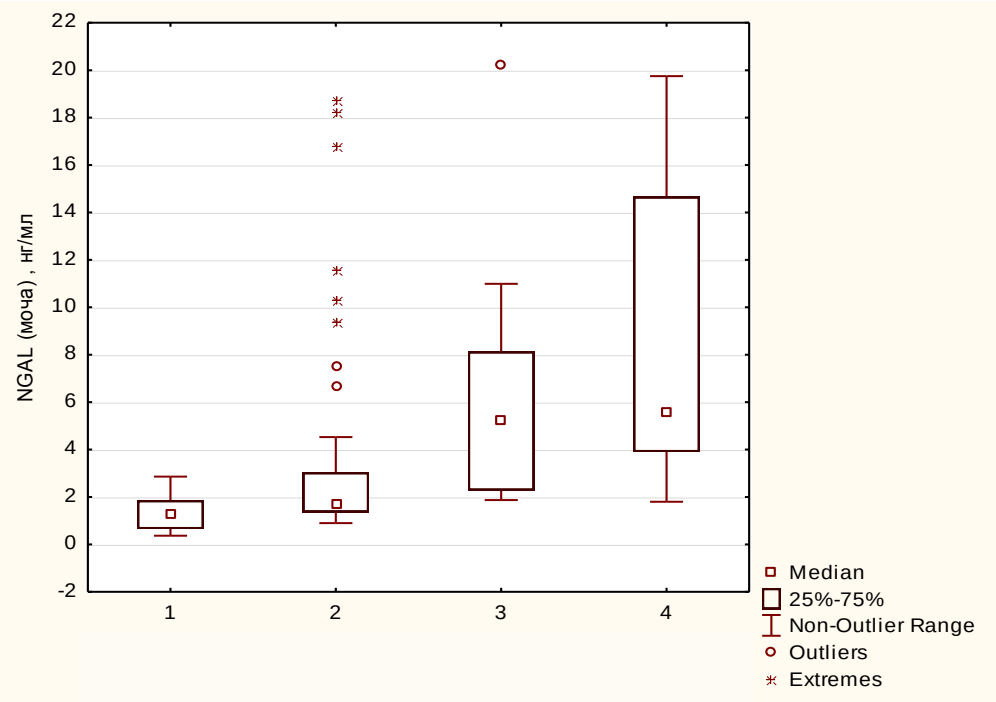
1- Контроль; 2- А1 (≤20 мг/л); 3- А2 (21-200 мг/л); 4- А3 (>200 мг/л)

Рисунок 5. Содержание нефрина в моче у больных СД2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (нг/мл).

Оценивая уровень экскреции нефрина в моче было отмечено статистически значимое повышение нефринурии у больных с СД2 по сравнению с группой здоровых лиц. Медиана данного показателя в группе с СД статистически значимо была выше 0,38 [0,23;0,66], по сравнению с группой здорового контроля 0,12 [0,06;0,21] p <0,001, U-критерий Манна–Уитни.

При сравнении между группами определялись статистически значимы различия p <0,001, критерий Крускала-Уоллиса. В группах А1 и А2, где медиана составила 0,38 [0,25;0,66] и 0,48[0,28;0,90] соответственно, отмечалось повышение уровня нефрина в моче по сравнению с группой здоровых лиц 0,12 [0,06;0,21] p <0,001 и p <0,001 соответственно, критерий Данна. При этом между группами А1 и А2 выявить статистические различался нам не удалось p = 1,000, критерий Данна. На стадии А3, где медиана составила 0,24[0,15;0,31] отмечалось статистически значимое снижение экскреции нефрина по сравнению с А1 p=0,044, критерий Данна.

На Рисунок 6 представлено содержание NGAL в моче у больных СД 2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (нг/мл).



1- Контроль; 2- А1 (≤20 мг/л); 3- А2 (21-200 мг/л); 4- А3 (>200 мг/л)

Рисунок 6. Содержание NGAL в моче у больных СД2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (нг/мл).

Оценивая уровень экскреции мочевого NGAL было отмечено статистически значимое повышение уровней NGAL в моче у больных с СД2 по сравнению с группой здоровых лиц. Медиана показателя в группе с СД статистически значимо была выше 2,63[1,58;7,41] чем в группе здорового контроля 1,29[0,66;1,86] p = <0,001, U-критерий Манна–Уитни.

При сравнении между группами выявленные различия были статистически значимы (p<0,001), критерий Крускала-Уоллиса.

На стадии А2 отмечалось статистически значимое повышение экскреции NGAL в моче по сравнению с группой А1, p= 0,005, критерий Данна. Медианы в этих группах составили 5,55[2,29; 9,37] и 1,73[1,38; 3,88] соответственно. В группах А2 и А3 отмечалось повышение уровня мочевого NGAL, которое не достигало статистической значимости, p = 1,000, критерий Данна. На стадии А3 отмечалось статистически значимое повышение экскреции NGAL с мочой по сравнению

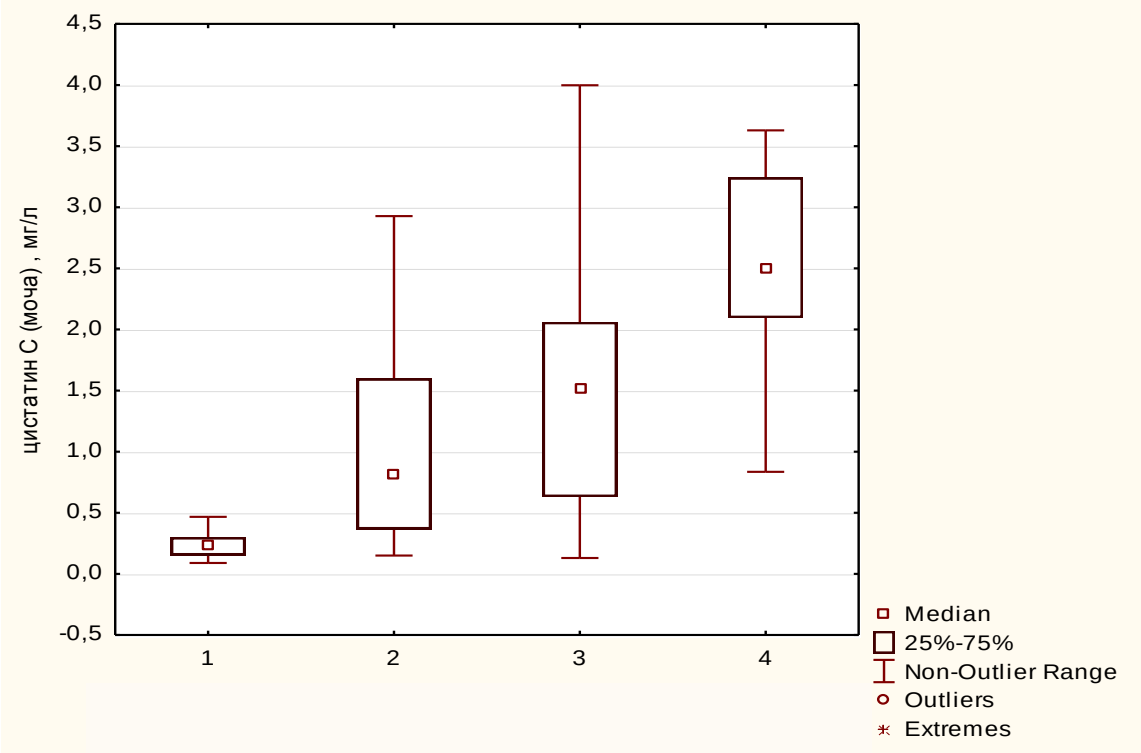
с А1. Медиана в группе А3 составила 6,04 [3,90;15,92]. Между группами здорового контроля и А1 не удалось достичь статистической значимости, p = 0,086, критерий Данна.

Для повышения диагностической значимости мы привели данный показатель к креатинину мочи по аналогии с уровнем АУ.

Оценивая уровень экскреции NGAL/креатинин было также выявлено статистически значимое повышение уровней NGAL/креатинин в моче у больных с СД2 по сравнению с группой здоровых лиц. Медиана показателя в группе с СД статистически значимо была выше 0,44 [0,27;0,97] чем в группе здорового контроля 0,12 [0,06;0,20], p = <0,001, U-критерий Манна–Уитни. При сравнении между всеми группами выявленные различия были статистически значимы (p<0,001), критерий Крускала-Уоллиса.

Повышение экскреции NGAL/креатинин отмечалось уже на стадии А1, превышая показатели у здорового контроля p= 0,002, критерий Данна, и нарастали по мере прогрессирования ДН от стадии А1 к А3 (Таблица 4). Наибольшие показатели NGAL/креатинин были зафиксированы на стадии А3, медиана экскреции в данной группе превышала показатели в группе здоровых лиц в 7,8 раз.

На Рисунок 7 представлено содержание Цистатин С в моче у больных СД 2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля.



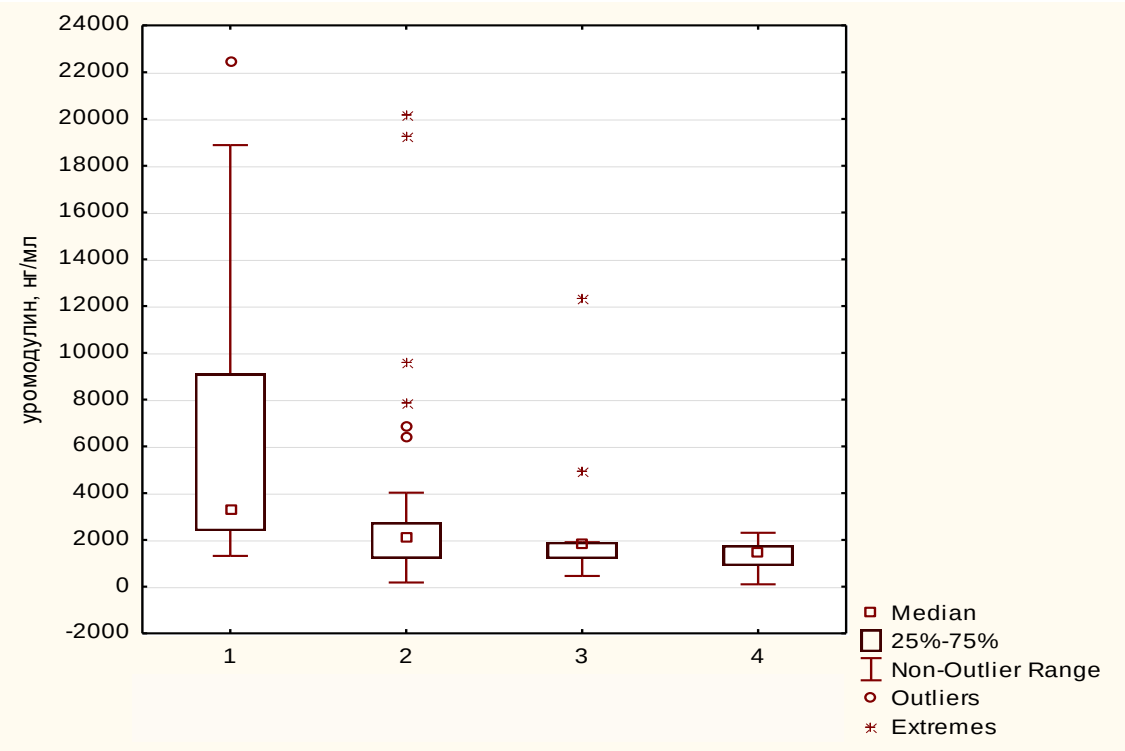
1- Контроль; 2- А1 (≤20 мг/л); 3- А2 (21-200 мг/л); 4- А3 (>200 мг/л)

Рисунок 7. Содержание цистатина С в моче у больных СД2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (мг/л).

При оценке уровня мочевой экскреции цистатина С отмечалось статистически значимое повышение уровней цистатина С в моче у больных СД2, медиана экскреции в группе СД составляла 1,26[0,57; 2,10] и достоверно превышала показатели у здоровых лиц 0,24[0,15; 0,30] p <0,001, U-критерий Манна–Уитни. На графике (Рисунок 7) видно, что повышение экскреции цистатина С отмечается уже на стадии А1 и увеличивается по мере прогрессирования ХБП.

При сравнении между группами различия имели статистически значимый характер p <0,001, критерий Крускала-Уоллиса. В группе А1 медиана составила 0,88[0,45; 1,64], в группе А2 1,65[0,68; 2,06]. Наибольший показатель уровня цистатина С в моче были зафиксирован у пациентов с А3, медиана составила 2,51[1,79; 3,26], что превышало показатели медианы в группе здорового контроля более чем в 10 раз p <0,001, критерий Данна, и была достоверно выше, чем у больных из групп А1 p=0,003, критерий Данна. Достоверных различий между группами А1 и А2 выявлено не было p=1,000, критерий Данна.

На Рисунок 8 представлено содержание уромодулина в моче у больных СД 2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля.



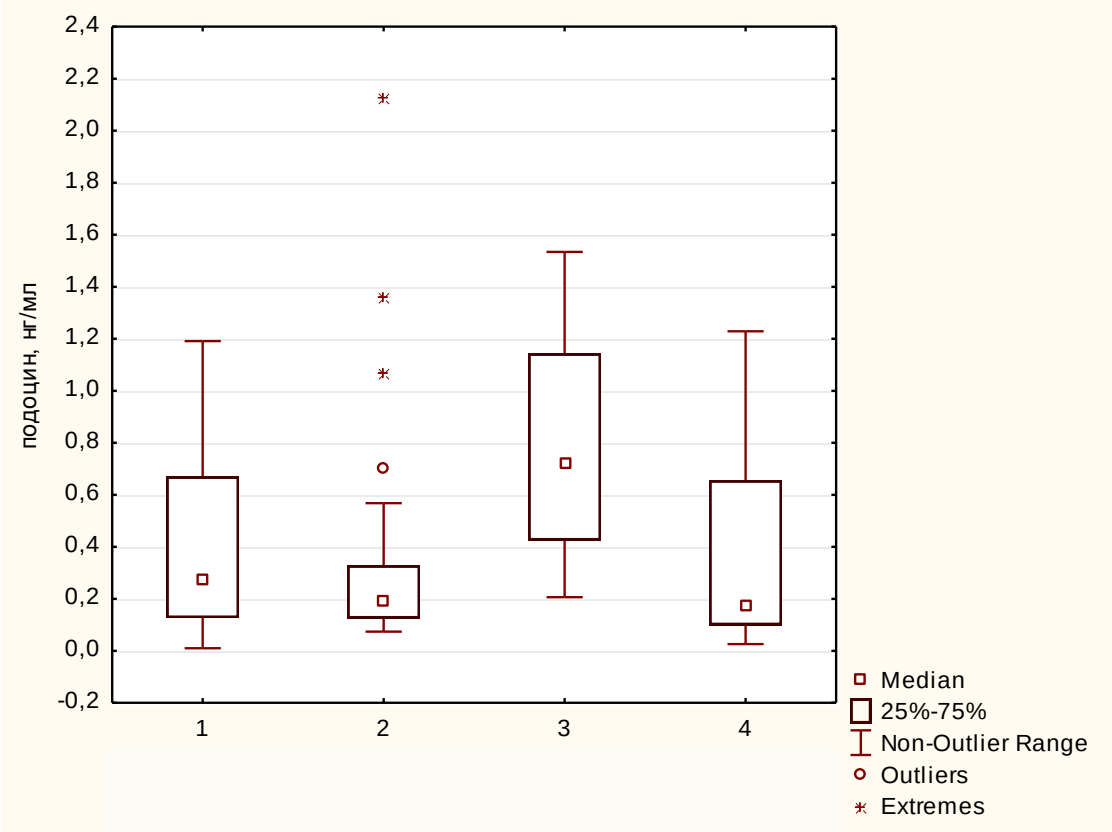
1- Контроль; 2- А1 (≤20 мг/л); 3- А2 (21-200 мг/л); 4- А3 (>200 мг/л)

Рисунок 8. Содержание уромодулина в моче у больных СД2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (нг/мл).

При оценки уровня экскреции уромодулина в моче было выявлено статистически значимое снижение уромодулинурии у больных с СД2 по сравнению с группой здоровых лиц p <0,001, U-критерий Манна–Уитни. Как показано на графике (Рисунок 8), снижение экскреции уромодулина отмечается уже на стадии А1 по сравнению с контрольной группой p = 0,023, критерий Данна, и становится меньше по мере нарастания степени тяжести ХБП. Медианы в группах контроля, А1, А2, А3 составили 3324[2385; 9102] , 2118[1206; 2743], 1796[1194;1902], 1496[896; 1760] соответственно.

Выявленные межгрупповые различия имели статистически значимый характер p<0,001, критерий Крускала-Уоллиса. Статистически значимые показатели также были выявлены между группой здоровых лиц и А2 p=0,02, критерий Данна. У больных с СД2 при оценке между групами А1, А2, А3 статистически значимых различий достичь не удалось, критерий Данна.

На Рисунок 9 представлено содержание подоцина в моче у больных СД 2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля.



1- Контроль; 2- А1 (≤20 мг/л); 3- А2 (21-200 мг/л); 4- А3 (>200 мг/л)

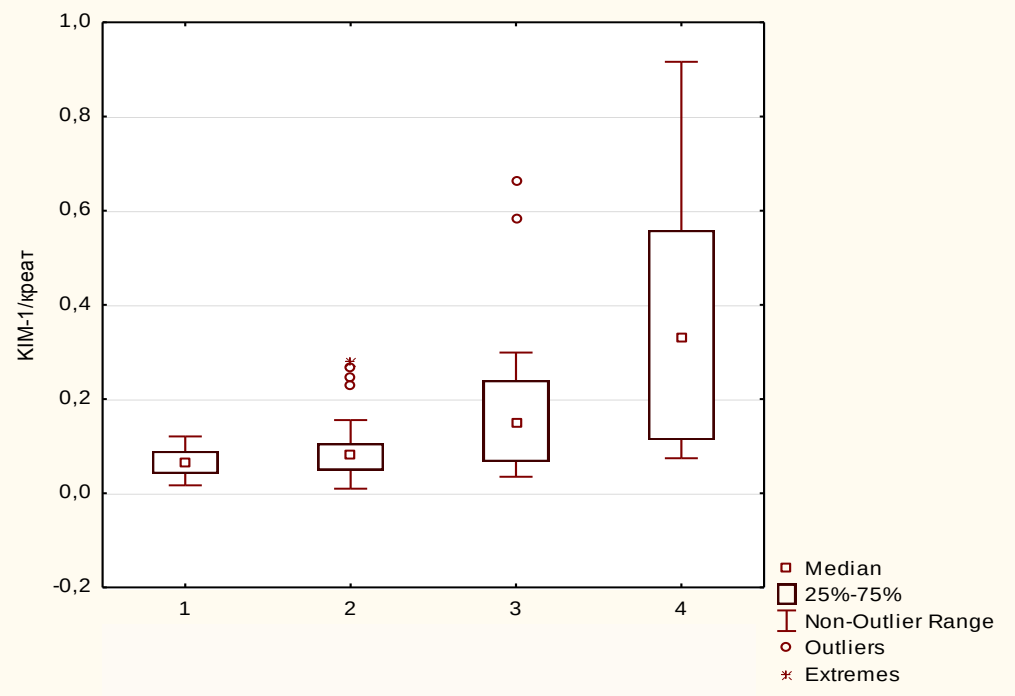
Рисунок 9. Содержание подоцина в моче у больных СД2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (нг/мл).

При оценке уровня подоцина в моче в группе здоровых лиц и больных СД в нашем исследовании статистически значимые различия не были достигнуты p= 0,905, U-критерий Манна–Уитни. Медианна в данных группах составила 0,28[0,13;0,67] и 0,23[0,14; 0,57] соответственно.

В то время как выявленные межгрупповые различия имели статистически значимый характер p <0,001, критерий Крускала-Уоллиса. В группе А2 отмечалось статистически значимое повышение уровня подоцина в моче по сравнению с группой А1 p <0,001, критерий Данна, и здоровым контролем p=0,027, критерий Данна. При этом между группами здорового контроля и А1 показатель статистически не различался p=1,000 На стадии А3 отмечалось статистически значимое снижение экскреции подоцина по сравнению с А2 p = 0,01, критерий Данна.

Содержание KIM-1 в моче у больных СД2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля представлено в Таблица 4. При оценке уровня KIM-1 в моче в группе здоровых лиц и больных СД в нашем исследовании статистически значимые различия не были достигнуты p= 0,411, U-критерий Манна–Уитни. При сравнении между группой здорового контроля и А1 статистически значимых различий достигнуть также не удалось p=1,000, критерий Данна.

Для повышения диагностической точности, мы приравняли показатель к уровню креатинина в моче. На Рисунок 10 представлено содержание KIM-1 /креатинина в моче у больных СД 2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля.



1-Контроль; 2- А1 (≤20 мг/л); 3- А2 (21-200 мг/л); 4- А3 (>200 мг/л)

Рисунок 10. Содержание KIM/креатинина в моче у больных СД2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (нг/мл). (нг/ммоль).

Оценивая уровень экскреции KIM-1/ креатинин в моче было отмечено статистически значимое повышение KIM-1/креатинин у больных с СД2 по сравнению с группой здоровых лиц. Медиана показателя в группе с СД была выше 0,09 [0,05;0,20] чем в группе здорового контроля 0,07[0,03; 0,09] p= 0,012, U-критерий Манна–Уитни.

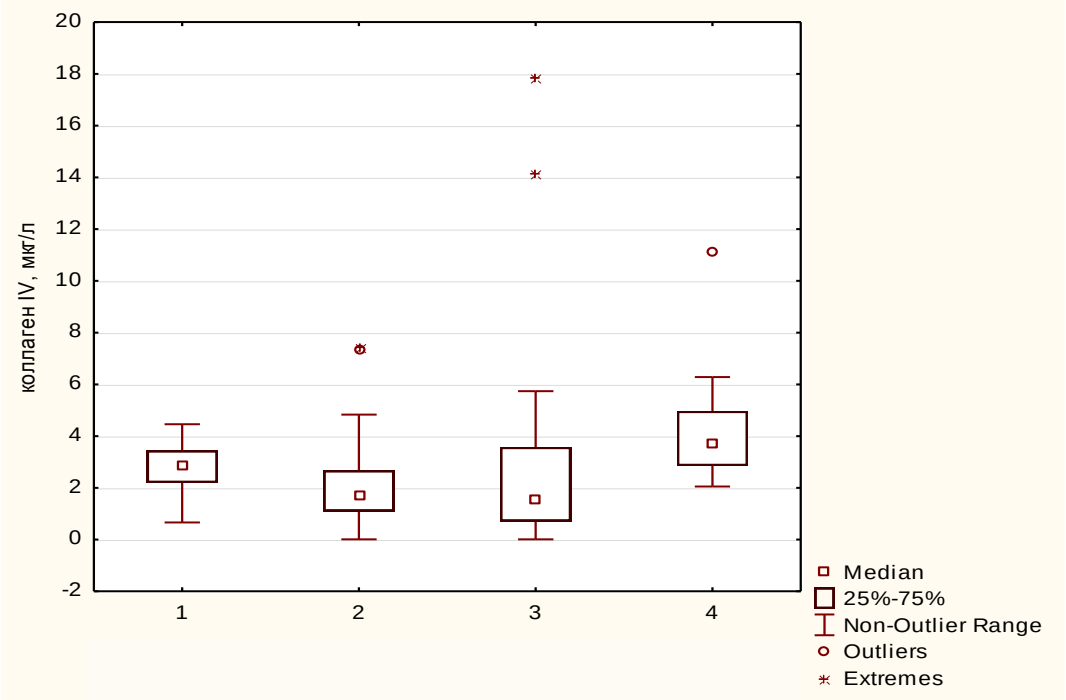
При сравнении между группами выявленные различия были статистически значимы p <0,001, критерий Крускала-Уоллиса. Медианы в группах А1, А2, А3 составили 0,08 [0,21;0,76], 0,15[0,07; 0,24], 0,33 [0,11; 0,56] соответственно.

Тем не менее на стадии А1 статистически значимого повышение экскреции KIM-1/креатинин по сравнению с группой контроля не было достигнуто. Медианы в этих группах составили 0,08 [0,21;0,76] и 0,07[0,03;0,09] соответственно p =1,000, критерий Данна.

На стадии А2 также было выявлено статистически значимое повышение экскреции KIM-1/креатинин по сравнению с группой контроля, p = 0,02, критерий Данна.

Между группами А2 и А1 статистически значимых различий выявить не удалось.

На Рисунок 11 представлено содержание коллаген IV в моче у больных СД 2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля.



1- Контроль; 2- А1 (≤20 мг/л); 3- А2 (21-200 мг/л); 4- А3 (>200 мг/л)

Рисунок 11. Содержание коллагена IV типа в моче у больных СД2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (мкг/л).

При оценке уровня мочевой экскреции коллагена IV статистически значимого повышения уровня коллагена IV у больных СД2 и здоровых лиц выявить не удалось p= 0,116, U-критерий Манна–Уитни.

При оценке уровня мочевой экскреции коллагена IV типа медиана экскреции в группе здорового контроля составила 2,88 [2,20; 3,44], в группах пациентов с СД2 А1, А2, А3 - 1,75 [1,10; 2,67], 1,56 [0,71; 3,57], 3,74 [2,85; 4,97] соответственно. При сравнении между группами выявленные различия были статистически значимы p= 0,001, критерий Крускала-Уоллиса. На графике (Рисунок 11) мы можем видеть, что наибольшая коллагенурия зафиксирована у пациентов с А3, которая статистически превышает показатели в группе А1, А2 более чем в 2 раза, p= 0,002, p= 0,014 соответственно, критерий Данна. Достоверных различий между группами А1 и А2 выявлено не было p= 1,000, критерий Данна. Медиана экскреции коллагена IV в этих группах была практически сопоставима.

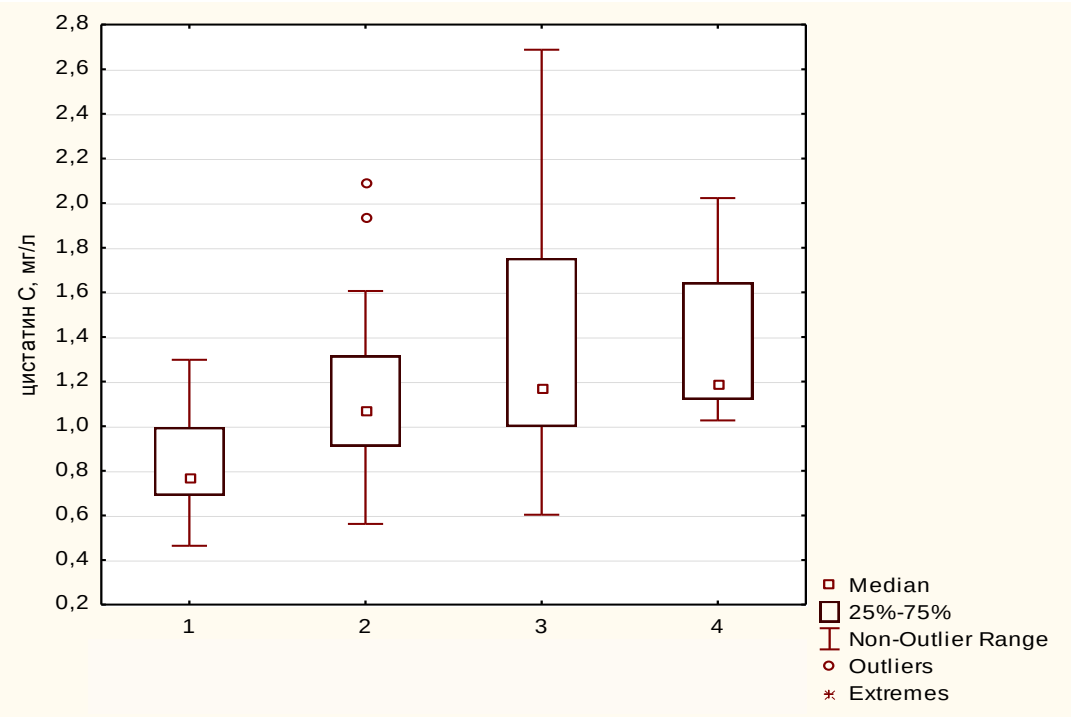
Сравнение уровней коллаген IV/креатинина у больных СД 2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля представлены в Таблица 4. При оценке уровня мочевой экскреции коллагена IV приведенного к креатинину статистически значимого повышения уровня коллагена IV у больных СД2 и здоровых лиц выявить также не удалось p= 0,111, U-критерий Манна–Уитни. Стоит отметить, что у показателя коллаген IV/ креатинин удалось выявить статистически значимые различия между группой контроля и начальной стадией ХБП p = 0,050, критерий Данна. Другие межгрупповые сравнения были схожи с коллаген IV описанному выше.

Таким образом, статистически значимые различия между группой здорового контроля и стадией А1 (нормоальбинурией) были выявлены для 4 биомаркеров мочи: нефрина - маркера клубочковой дисфункции и NGAL, Цистатин С, уромодулина – маркеров тубулярной дисфункции. Данные биомаркеры мочи были отобранным нами на данном этапе для дальнейшего диагностического поиска.

В отношении подоцина, KIM-1/креатинина и коллагена IV/креатинина выявлены статистически значимые различия на стадии А2 параллельно развитию микроальбуминурии.

Диагностические различия плазменных биомаркеров

На Рисунок 12 представлено содержание Цистатин С в крови у больных СД 2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля.



1- Контроль; 2- А1 (≤20 мг/л); 3- А2 (21-200 мг/л); 4- А3 (>200 мг/л)

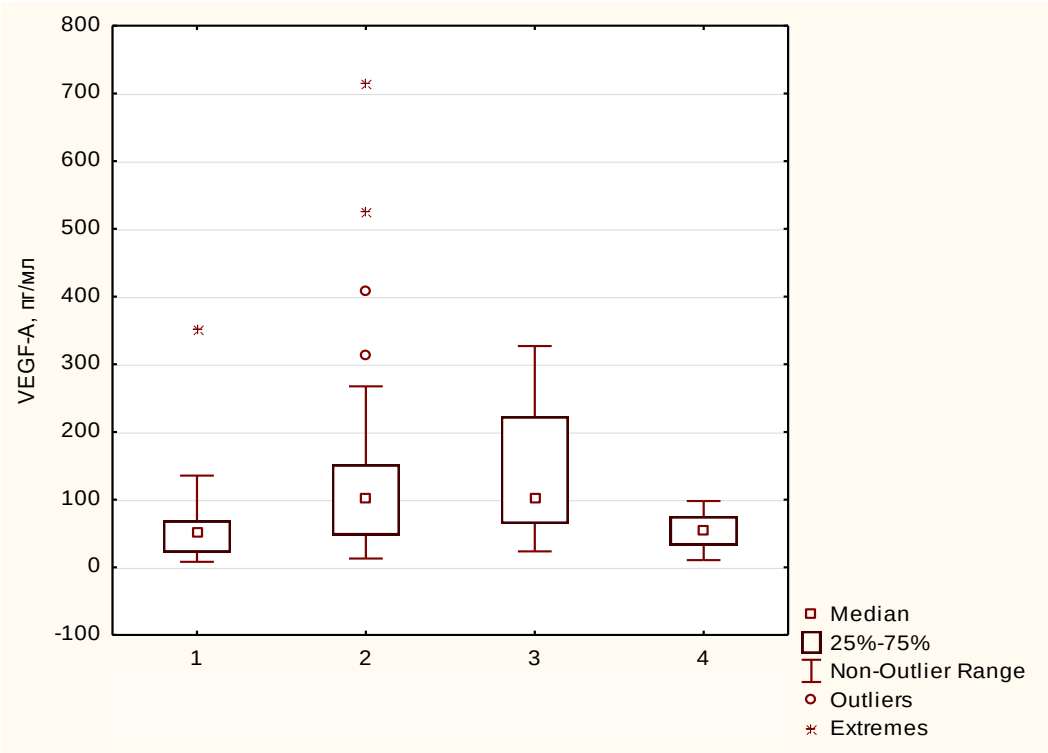
Рисунок 12. Содержание цистатина С в крови у больных СД2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (нг/мл).

При оценке уровня цистатина С в крови отмечалось достоверное повышение уровней цистатина С у больных СД2 по сравнению с группой здорового контроля. Медиана экскреции в группе СД составляла 1,12 [0,97;1,40] и статистически значимо превышала показатели медианы у здоровых лиц 0,77 [0,69; 0,99] p <0,001, U-критерий Манна–Уитни.

На графике (Рисунок 12) видно, что повышение экскреции цистатина С отмечается уже на стадии А1 и увеличивается по мере прогрессирования ДН. При сравнении между группами различия имели статистически значимый характер p <0,001, критерий Крускала-Уоллиса.

В группе А1 медиана составила 1,06 [0,91; 1,32], в группе А2 1,17 [1,00; 1,75], при сравнении данных групп с группой здоровых лиц была достигнута статистическая значимость p <0,001, p <0,001 соответственно, критерий Данна. Наибольшие значения уровня цистатина С в крови определялись у пациентов с А3, медиана составила 1,19 [1,12; 1,64], что превышало показатели медианы в группе здорового контроля более чем в 1,5 раза p <0,001, критерий Данна. Статистически значимых различий между группами А2 и А3 выявлено не было p=1,000, критерий Данна. Медиана уровней Цистатина С в крови в этих группах была практически сопоставима.

На Рисунок 13 представлено содержание VEGF-A в крови у больных СД 2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля.



1- Контроль; 2- А1 (≤20 мг/л); 3- А2 (21-200 мг/л); 4- А3 (>200 мг/л)

Рисунок 13. Содержание VEGF-A в крови у больных СД2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (пг/мл).

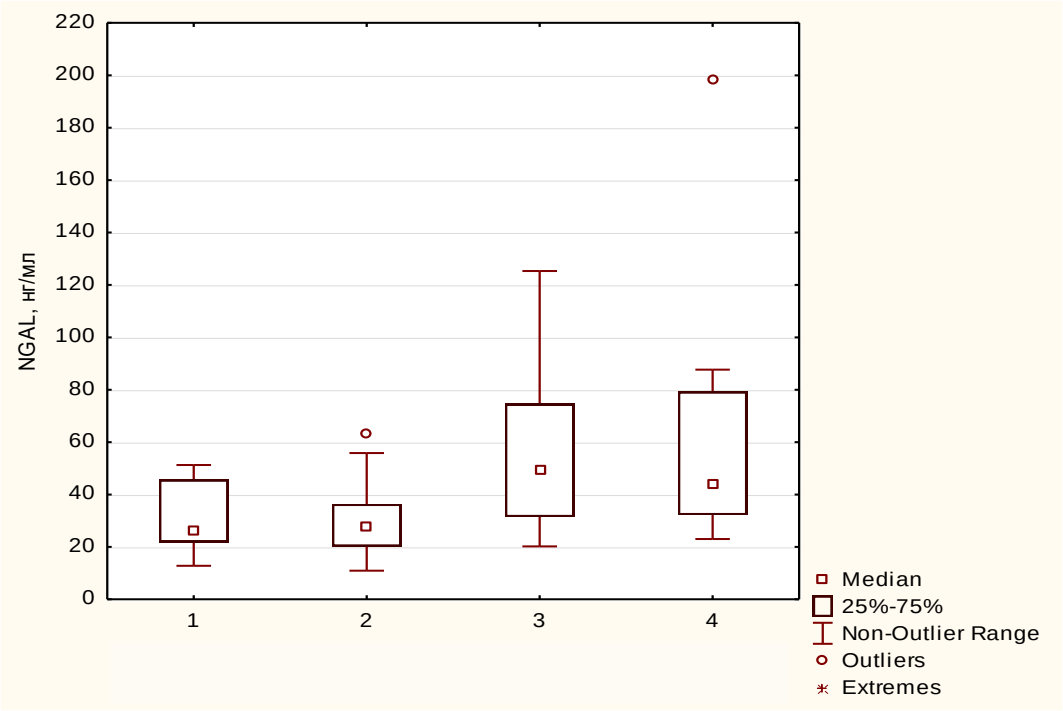
Оценивая уровень VEGF-A в крови отмечалось статистически значимое повышение уровней VEGF-A у больных СД2 по сравнению с группой здорового лиц. Медиана экскреции в группе СД составила 88,62 [52,26; 151,37] и статистически значимо превышала показатели медианы у здоровых лиц 52,23 [22,36; 68,73] p= 0,002, U-критерий Манна–Уитни.

При сравнении между группами различия имели статистически значимый характер p= <0,001, критерий Крускала-Уоллиса.

На графике (Рисунок 13) видно, что повышение экскреции VEGF-A у пациентов с СД отмечается уже на стадии А1 и увеличивается к стадии А2.

В группе А1 медиана составила 101,44 [47,71; 151,61], что статистически значимо превышало данный показатель в группе здорового контроля 52,23 [22,36; 68,73] p =0,015, критерий Данна, и при этом достоверно была ниже по сравнению с группой А2 115,57 [69,79;240,48] p = 0,003, критерий Данна. Затем, в группе А3 мы наблюдаем статистически значимое снижение уровня VEGF-A по сравнению с группой А2 p = 0,021, критерий Данна. Медиана в группе А3 составила 56,02 [32,85;74,95], что было практически сопоставимо с медианой в группе здорового контроля.

На Рисунок 14 представлено содержание NGAL в крови у больных СД 2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля.



1- Контроль; 2- А1 (≤20 мг/л); 3- А2 (21-200 мг/л); 4- А3 (>200 мг/л)

Рисунок 14. Содержание NGAL в крови у больных СД2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (нг/мл).

Оценивая уровень NGAL в крови фиксировалось повышение показателя медианы у больных с СД2 по сравнению с группой здоровых лиц, при этом при сравнении группы пациентов с СД и здорового контроля статистической значимых различий не удалось выявить.

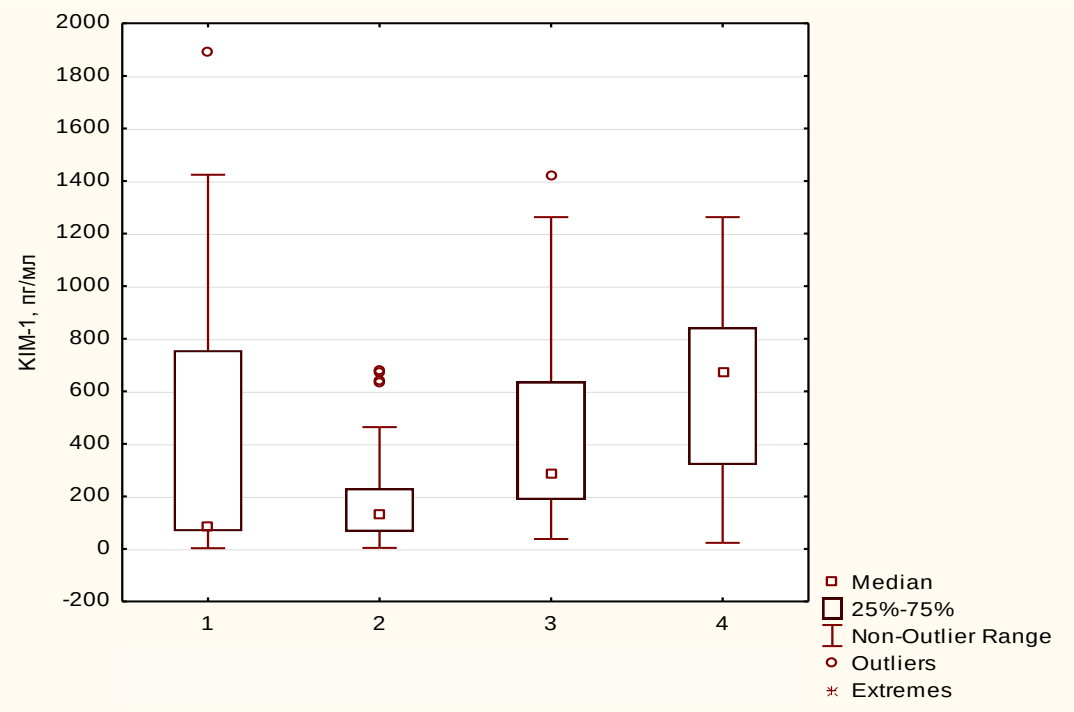
Медиана NGAL в крови в группе с СД составила 32,28 [23,72; 49,82], в группе здорового контроля 26,63 [21,87; 45,63] p = 0,154, U-критерий Манна–Уитни.

При межгрупповом сравнении групп А1, А2, А3 и здорового контроля выявленные различия были статистически значимы p <0,001, критерий Крускала-Уоллиса. Медианы в группе А1 и группе здорового контроля практически не отличались и составили 27,57 [20,22; 36,36] и 26,63 [21,87; 45,63] соответственно p=1,000, критерий Данна. В то время как, в группе А2 отмечалось статистически значимое повышение медианы 49,82 [31,47; 74,57] по сравнению с медианой в группе А1 p <0,001, критерий Данна, и группой здорового контроля p = 0,011, критерий Данна.

Наибольший уровень NGAL в крови фиксировался у пациентов с А3, медиана показателя в этой группе составила 68,10 [32,22; 198,78] она превышала показатели в группе здорового контроля

практически в 2 раза p=0,008, критерий Данна. При этом между группами А2 и А3 статистически значимых различий выявлено не было p=1,000, критерий Данна.

На Рисунок 15 представлено содержание KIM-1 в крови у больных СД 2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля.



1- Контроль; 2- А1 (≤20 мг/л); 3- А2 (21-200 мг/л); 4- А3 (>200 мг/л)

Рисунок 15. Содержание KIM-1 в крови у больных СД2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (пг/мл).

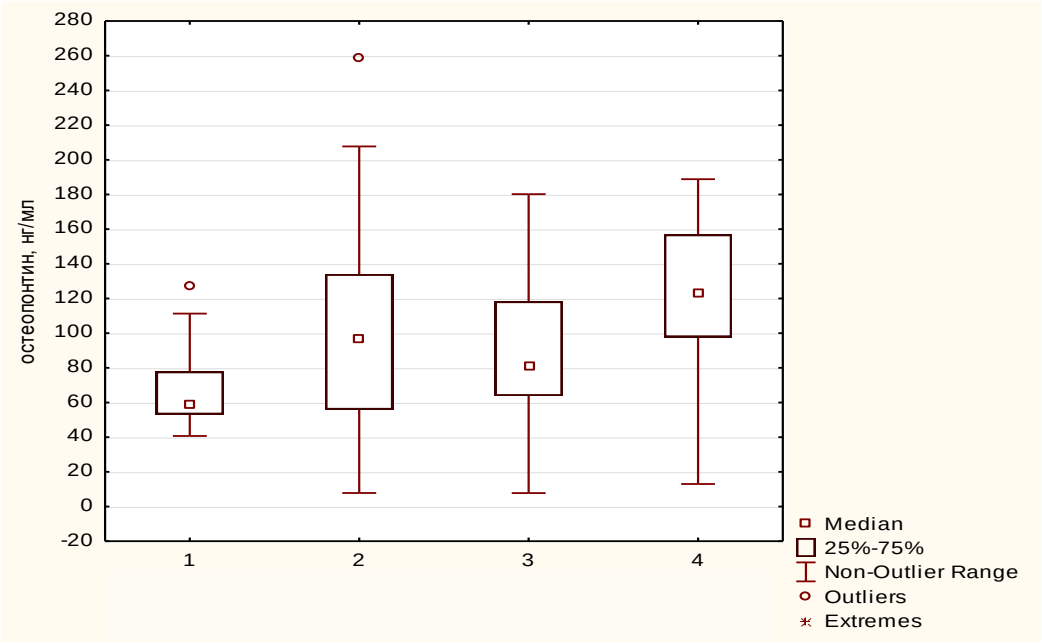
Оценивая уровень KIM-1 в крови фиксировалось повышение KIM-1 у больных с СД2 по сравнению с группой здоровых лиц, при этом при сравнении группы пациентов с СД и здорового контроля статистически значимых различий в группах выявить не удалось. Медиана показателя в группе с СД составила 221,66 [84,57; 652,77], в группе здорового контроля 100,80 [68,61;1029,85] p = 0,638, U-критерий Манна–Уитни.

При межгрупповом сравнении групп А1, А2, А3 и здорового контроля выявленные различия были статистически значимы p= 0,002, критерий Крускала-Уоллиса. Медиана в группе А1 была выше 160,18 [68,81; 415,14] по сравнению с группой здорового 100,80 [68,61;1029,85] контроля, но статистической значимости при этом достигнуть не удалось p= 1,000, критерий Данна. Группа А2 статистически значимо различалась 287,21[187,27; 636,57] с группой А1 p = 0,042, критерий Данна.

Наибольший уровень KIM-1 в крови фиксировался у пациентов с А3, медиана показателя в этой группе составила 686,19 [320,22; 1262,51], она превышала показатели в группе здорового

контроля в более чем в 6,5 раз p=0,008, критерий Данна. При этом между группами А2 и А3 статистически значимых различий выявить не удалось p=1,000, критерий Данна.

На Рисунок 16 представлено содержание остеопонтина в крови у больных СД 2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля.



1- Контроль; 2- А1 (≤20 мг/л); 3- А2 (21-200 мг/л); 4- А3 (>200 мг/л)

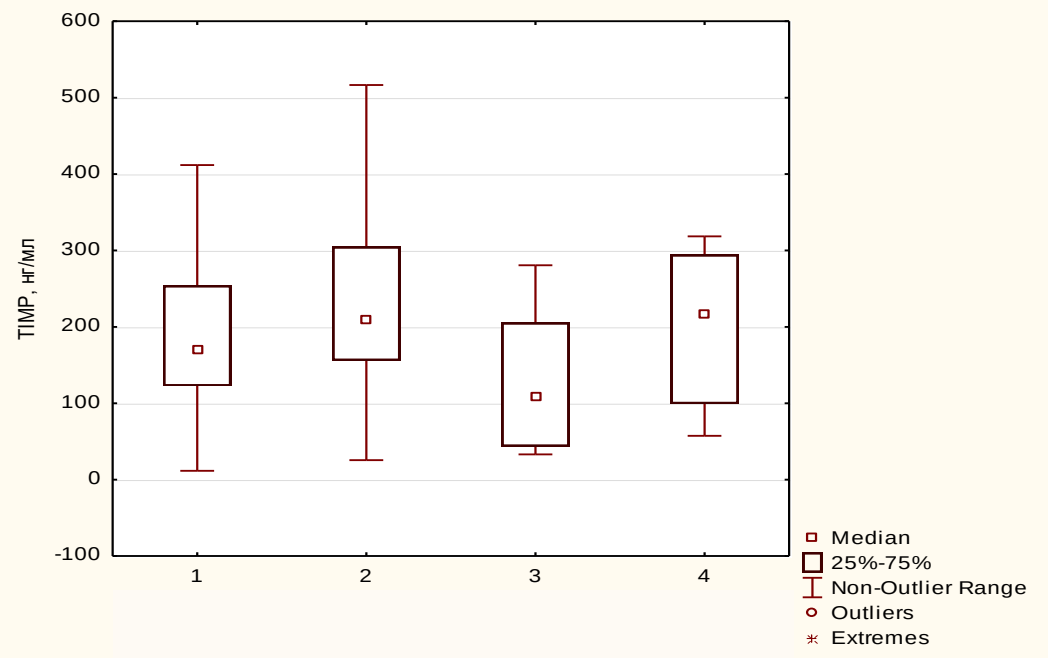
Рисунок 16. Содержание остеопантина в крови у больных СД2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (нг/мл).

Оценивая уровень остеопонтина в крови было отмечено достоверно значимое повышение остеопонитина у больных с СД2 по сравнению с группой здоровых лиц.

Медиана показателя в группе с СД была выше 99,11 [61,48; 134,67], чем в группе здорового контроля 59,31 [53,14; 77,93], p = 0,005, U-критерий Манна–Уитни.

При сравнении между группами выявленные различия были статистически значимы p= 0,022, критерий Крускала-Уоллиса. В группе А1 отмечалось повышение медианы остеопонтина 97,43 [55,87; 134,07] по сравнению с медианой в группе здоровых лиц 59,31 [53,14; 77,93], но не достигала статистически значимых величин p= 0,065. На графике (Рисунок 16) видно, что наибольший уровень остеопонтина в крови фиксировался у пациентов с А3, медиана показателя в этой группе составила 123,71 [97,73; 156,93], она превышала показатели в группе здорового контроля в более чем в 2 раза p= 0,032, критерий Данна. Между группами А1 и А2 статистически значимые различия не были достигнуты p= 0,566, критерий Данна.

На Рисунок 17 представлено содержание TIMP в крови у больных СД 2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля.



1- Контроль; 2- А1 (≤20 мг/л); 3- А2 (21-200 мг/л); 4- А3 (>200 мг/л)

Рисунок 17. Содержание TIMP в крови у больных СД2 в группах А1, А2, А3 и группе здорового контроля (нг/мл).

Оценивая уровень TIMP в крови определялось повышение показателя медианы у больных с СД2 по сравнению с группой здоровых лиц, при этом при сравнении группы пациентов с СД и здорового контроля показатель не достигал статистической значимости, медиана TIMP в крови в группе с СД составила 200,11 [99,81; 280,58], а в группе здорового контроля 170,67 [122,69; 253,85], p= 0,455, U-критерий Манна–Уитни.

При межгрупповом сравнении групп А1, А2, А3 и здорового контроля выявленные различия были статистически значимы p= 0,038, критерий Крускала-Уоллиса. Медианы в группе А1 была несколько выше по сравнению с группой здоровых лиц и составили 209,14 [156,06; 304,65] и 170,67 [122,69; 253,85] соответственно, но при этом не достигала статистически значимых различий, p= 0,892, критерий Данна. Самый высокий уровень TIMP в крови фиксировался у пациентов с А3, медиана показателя в этой группе составила 217,52 [99,50; 294,22].

Таким образом, при оценке плазменных биомаркеров, статистические значимые различия в группе А1 (нормоальбинурии) и группе здорового контроля показали 2 маркера: Цистатин С и VEGF-A. Данные биомаркеры плазмы были отобранным нами на данном этапе для дальнейшего диагностического поиска.

При этом, в отношении NGAL плазмы были выявлены статистические значимые различия на стадии А2 (микроальбуминурии).

Корреляционная взаимосвязь

Согласно алгоритму диагностического поиска помимо статистически значимых различий с группой А1, мы также оценивали корреляционную взаимосвязь всех маркеров, отобранных на первом этапе (Рисунок 18, Рисунок 19).

При анализе корреляционных взаимосвязей у пациентов с СД2 была выявлена взаимосвязь между уровнем нефрина и альбуминурией (r = 0,49; p <0,01, SRCC).

В нашей работе нефрин не только показал статистически значимые различия с группой контроля уже на стадии А1, но и имел выраженную корреляцию с АУ.

Проводя корреляционный анализ, была выявлена статистически значимая положительная связь между уровнем экскреции NGAL/креатинин и АУ (r=0,453; p <0,001, SRCC) и альбумин/креатинином в моче (r=0,428; p <0,001, SRCC).

Помимо достоверных различий выявленных на стадии А1 и увеличение уровня NGAL/креатинин по мере прогрессирования ХБП, NGAL/креатинин имел статистически значимую корреляцию с уровнем АУ.

Уромодулин статистически значимо снижался на стадии А1 и имел положительную корреляцию с СКФ (r=0,283; p = 0,022, SRCC).

При анализе корреляционных взаимосвязей у пациентов с СД2 была выявлена достоверная положительная взаимосвязь между уровнем Цистатина С в моче и альбуминурией (r = 0,301; p=0,007, SRCC), а также креатинином крови (r = 0,234; p= 0,038, SRCC).

При оценке корреляционных взаимосвязей между уровнем Цистатина С в крови и классическими маркерами поражения почек у пациентов с СД2. Была выявлена статистически значимая связь с альбуминурией (r = 0,338; p=0,002, SRCC), с альбумин/креатинином (r = 0,375; p <0,001, SRCC), с креатинином (r = 0,437; p <0,001, SRCC) и с СКФ EPI (r = -0,565; p <0,001, SRCC).

Цистатин С - единственный биомаркер, показавший статистически значимые различия как в моче, так и в плазме у пациентов с СД2 между группой контроля и А1 и положительно коррелировал с АУ в моче и имел выраженную отрицательную корреляцию с СКФ в плазме.

Несмотря на то, что VEGF-A показал статистически значимые различия на стадии А1 по сравнению с группой контроля, VEGF-A на этом этапе был исключен из комплекса дальнейшей

оценки, так как не имел статистически значимых корреляций ни с одним из классических маркеров ХБП.

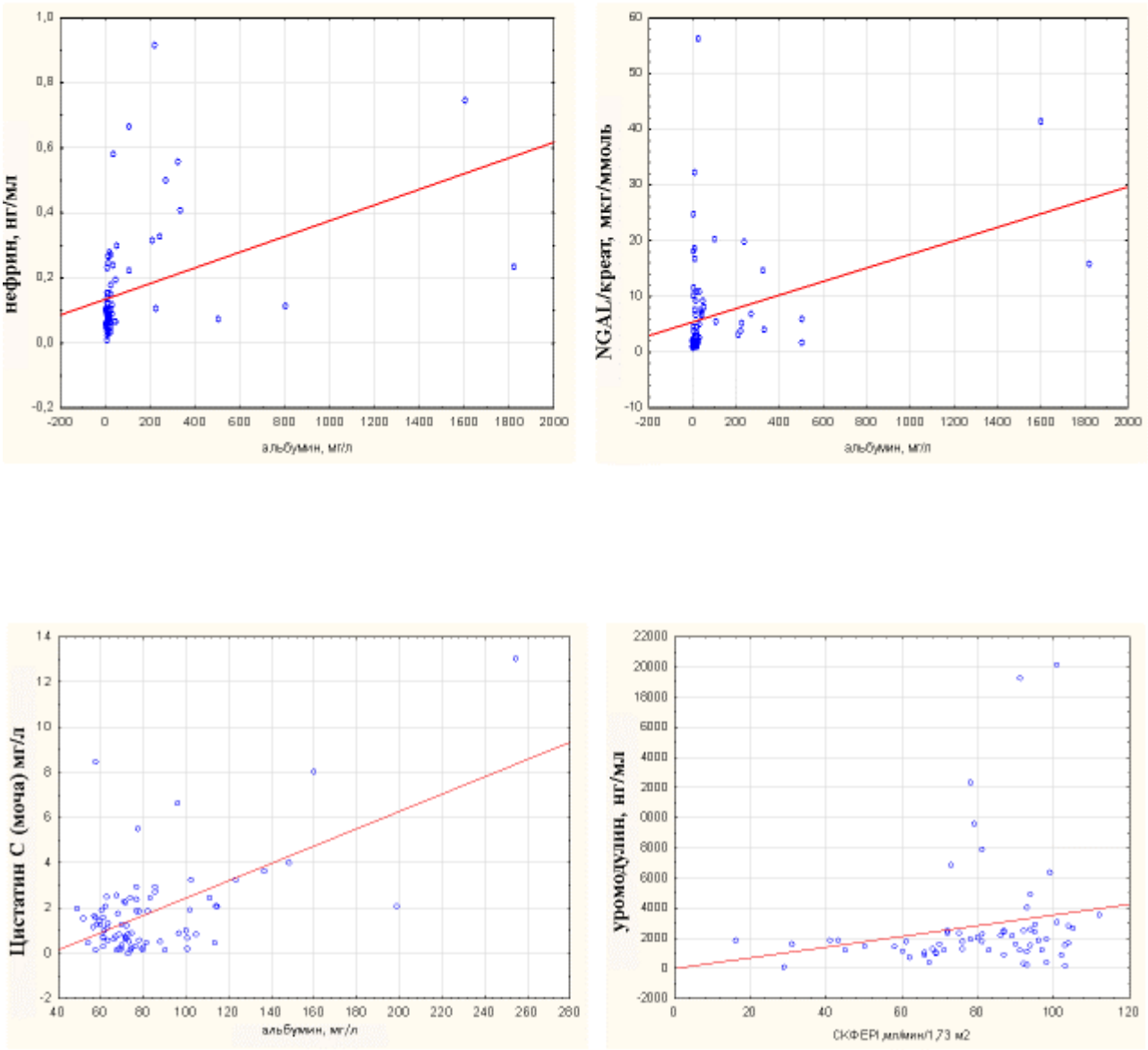


Рисунок 18. Графики корреляционной взаимосвязи биомаркеров мочи, отобранных на первом этапе диагностического поиска, с классическими маркерами поражения почек у пациентов с СД2.

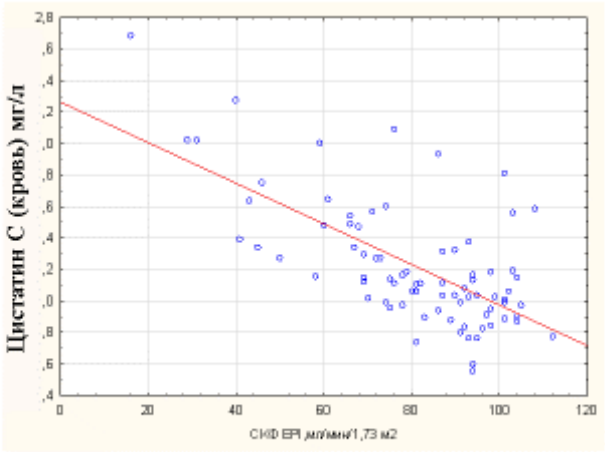


Рисунок 19. График корреляционной взаимосвязи Цистатина С в крови с СКФ(EPI), мл/мин/1,73м2 у пациентов с СД2.

Оценка чувствительности и специфичности биомаркеров по сравнению с АУ.

Далее согласно алгоритму диагностического поиска, мы провели ROC- анализ, который позволил выделить более чувствительные и специфичные маркеры по сравнению с АУ в соответствии с наибольшими значениями индекса Юдена и показателями площади под ROC-кривой.

Сравнительные характеристики ROC-кривых мочевых и плазменных биомаркеров ХБП, показавших статистические значимые различия, в группе А1 и группе здорового контроля у больных с СД2 по сравнению с показателями альбумина в моче представлены в Таблица 5.

Таблица 5. Сравнительная характеристика ROC-кривых мочевых и плазменных биомаркеров ДН, показавших статистические значимые различия , в группе А1 и группе здорового контроля у больных с СД2 по сравнению с АУ.

Биомаркер	Чувстви-тельность (%)	Специ-фичность (%)	PPV* (%)	NPV* (%)	AUC	p^{Δ}
NGAL/креат. , мкг/ммоль	85,11 (71,7 - 93,8)	75,0 (47,6 - 92,7)	90,91	63,17	0,835 (0,72-0,917)	0,1911
Уромодулин, нг/мл	72,73 (57,2 - 85,0)	63,16 (38,4 - 83,7)	82,02	50,05	0,614 (0,528-0,773)	0,6552
нефрин, нг/мл	96 (86,3 - 99,5)	70 (45,7 - 88,1)	88,88	87,52	0,894 (0,797-0,955)	0,0034
u-цистатин С, мг/л	83,67 (70,3 - 92,7)	100,00 (73,5 - 100,0)	100	60,04	0,868 (0,757-0,941)	0,0280
цистатин С, мг/л	91,84 (80,4 - 97,7)	57,14 (34,0 - 78,2)	83,33	75,01	0,811 (0,70-0,895)	0,0131
альбумин, мг/л	72,00 (57,5-83,8)	52,38 (29,8 - 74,3)	78,24	44,03	0,605 (0,482-0,719)	-

*Положительные предсказательные значения (PPV) и отрицательные предсказательные значения (NPV) для теста определялись с помощью теоремы Байеса.

** AUC – показатель величины площади под кривой.

p^{Δ} - при сравнении с АУ.

Также был проведен сравнительный анализ ROC кривых альбумина в моче с мочевыми и плазменными биомаркерами, определяющий чувствительность и специфичность для найденных биомаркеров в крови и моче по сравнению с АУ.

Графики сравнения чувствительности и специфичности мочевых биомаркеров у пациентов с СД2 по сравнению с АУ представлены на рисунках Рисунок 20, 21, Рисунок 22, Рисунок 23.

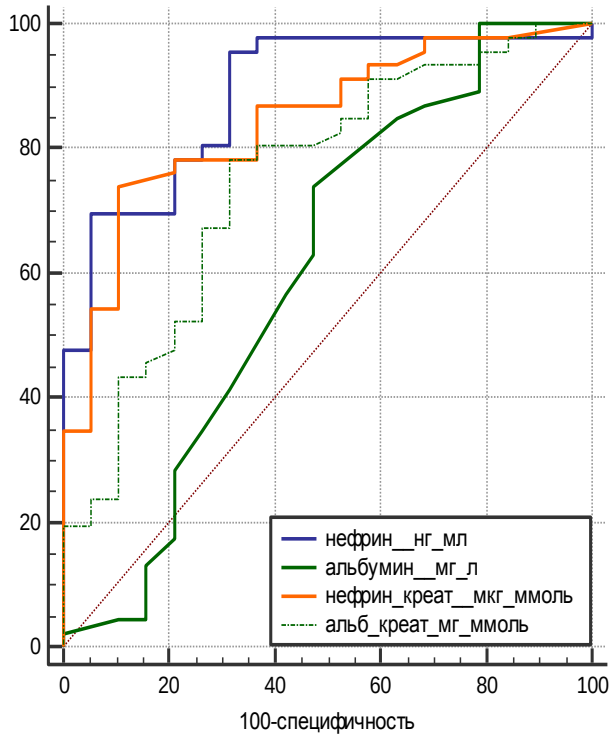


Рисунок 20. График чувствительности и специфичности нефрина, нг/мл у пациентов с СД2 по сравнению с АУ.

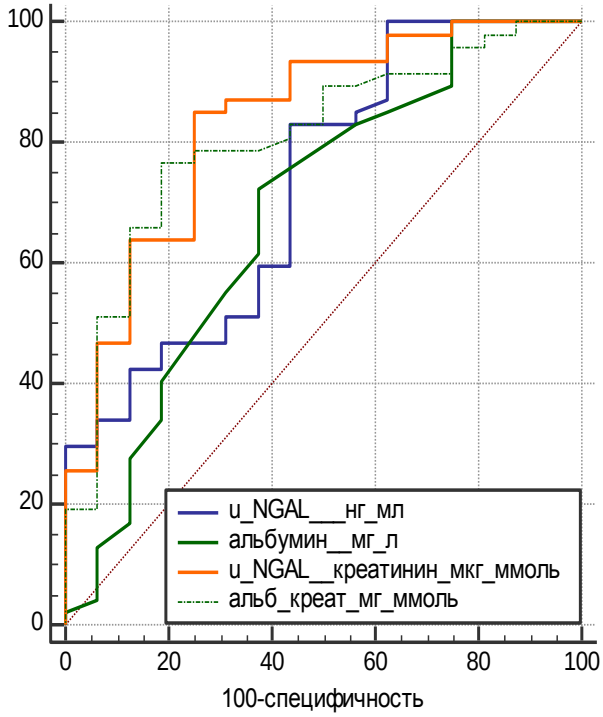


Рисунок 21. График чувствительности и специфичности NGAL/креатинин, мкг/ммоль в моче у пациентов с СД2 по сравнению с АУ.

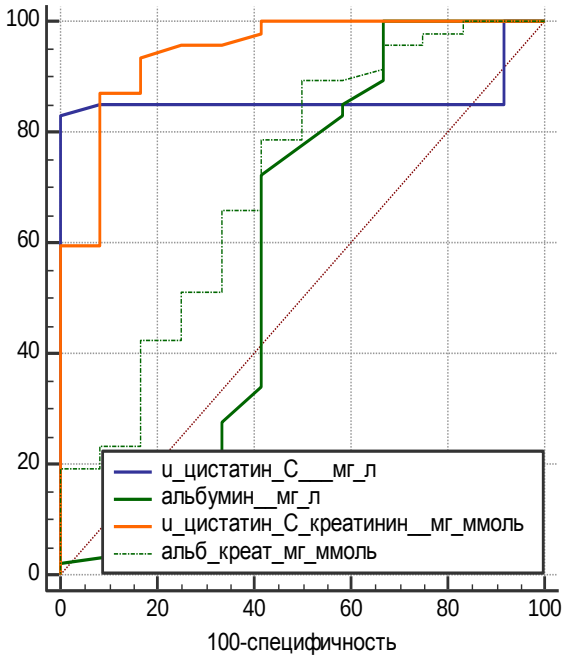


Рисунок 22. График чувствительности и специфичности Цистатина С, мг/л в моче у пациентов с СД2 по сравнению с АУ.

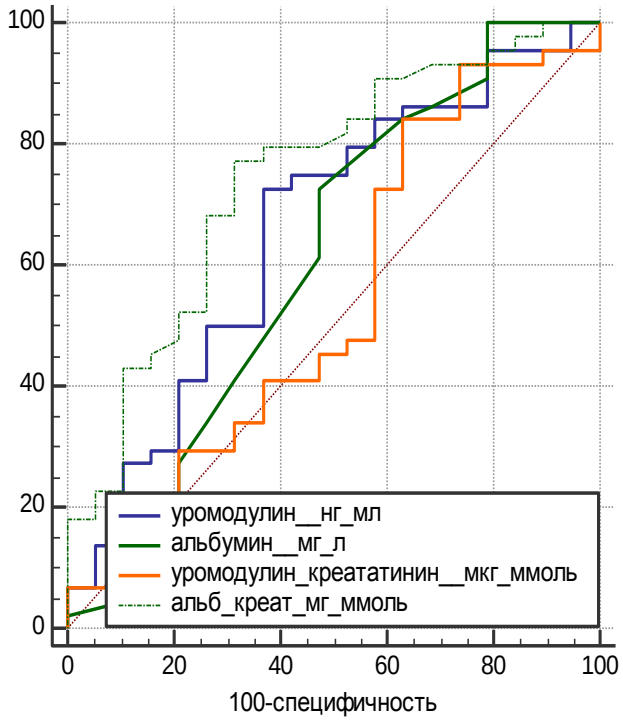


Рисунок 23. График чувствительности и специфичности уромодулина, нг/мл в моче у пациентов с СД2 по сравнению с АУ.

Данный этап позволил исключить из дальнейшего диагностического поиска уромодулин, ввиду отсутствия более высокой чувствительности и специфичности по сравнению с АУ.

Сравнивая характеристики плазменных биомаркеров, Цистатина С в плазме показал большую чувствительность и специфичность по сравнению АУ и альбумин/креатинином (Рисунок 24).

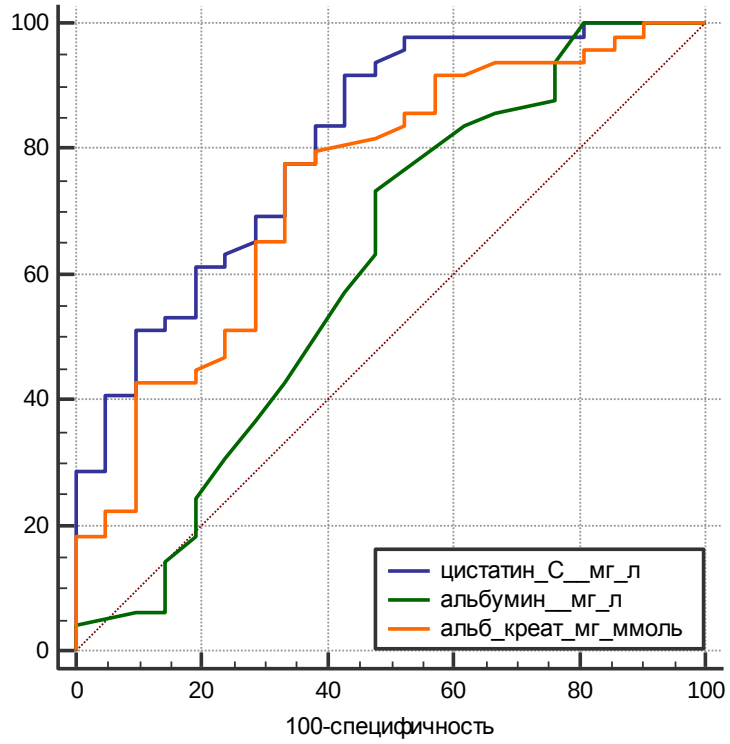


Рисунок 24. График чувствительности и специфичности Цистатина С мг/л в плазме у пациентов с СД2 по сравнению с АУ.

Определение диагностического порога отсечения (cut-off) для нормы и патологии

Для определения чувствительности и специфичности, исследуемых биомаркеров был использован ROC –анализ, позволивший одномерно оценить прогностические возможности биомаркеров крови и мочи, показавших статистические значимые различия в группе А1 у больных СД2 и группой контроля. Критерием выбора оптимального порога отсечения (cut-off) являлось достижение максимального значения индекса Юдена. Наибольшие значения чувствительности и специфичности были определены у следующих мочевых и плазменных биомаркеров: NGAL/креатинин, нефрин, u-цистатин С, цистатина С (Таблица 6).

Таблица 6. Сравнительная характеристика чувствительности, специфичности мочевых и плазменных биомаркеров ХБП и значения оптимальных порогов отсечения (cut-off), показавших статистические значимые различия, в группе А1 и группе здорового контроля у больных с СД2.

Биомаркер	cut-off	чувствительность (%)	специфичность (%)	индекс Юдена
NGAL/креат., мкг/ммоль	>0,204	85,11 (71,7 - 93,8)	75,0 (47,6 - 92,7)	0,601
Уромодулин, нг/мл	≤2618	72,73 (57,2 - 85,0)	63,16 (38,4 - 83,7)	0,359
нефрин, нг/мл	>0,148	96 (86,3 - 99,5)	70 (45,7 - 88,1)	0,660
u-Цистатин С, мг/л	>0,254	83,67 (70,3 - 92,7)	100,00 (73,5 - 100,0)	0,837
Цистатин С, мг/л	>0,775	91,84 (80,4 - 97,7)	57,14 (34,0 - 78,2)	0,4898

После проведенного статистического анализа, было установлено, что повышение мочевой экскреции NGAL, нефрина, цистатина С и уровня цистатина с в плазме крови обладает большей чувствительностью и специфичностью по сравнению со стандартным тестом – АУ, что позволяет рассматривать их в качестве более информативных маркеров ранней диагностики диабетической болезни почек. При этом были рассчитаны оптимальные значения исследуемых биомаркеров для доклинической диагностики ХБП при СД2: NGAL/креатинин >0,204 мкг/ммоль, нефрин >0,148 нг/мл, u-цистатин С >0,254 мг/л; цистатин С >0,775 мг/л.

На основании полученного оптимального порога отсечки, мы выявили пациентов в группе А1, у которых были повышены биомаркеры по сравнению с группой здорового контроля.

Выделение для стадии А1 комбинации биомаркеров с максимальными показателями на всех предыдущих этапах

Изначально нами были исследованы 13 биомаркеров – кандидатов в плазме и моче, ассоциированных с диабетическим повреждением почек. По средствам отсечения диагностически незначимых маркеров, были выявлены 4 биомаркера, из которых нефрин - это классический клубочковый биомаркер, NGAL/ креатини - классический тубулярный биомаркер и цистатин с в плазме и моче - это маркер тубуло-гломерулярного повреждения.

Алгоритм выбора диагностической панели биомаркеров доклинической диагностики ХБП представлен на Рисунок 25.

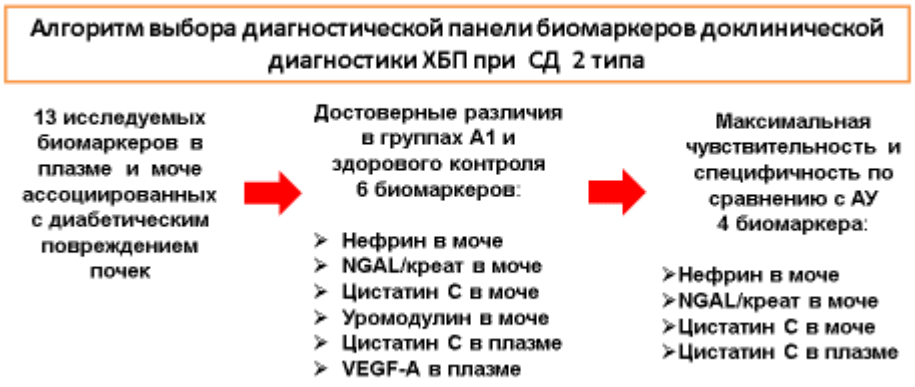


Рисунок 25. Алгоритм выбора диагностической панели биомаркеров доклинической диагностики ХБП у пациентов с СД2.

Выделив данные биомаркеры в качестве основных прогностически значимых для определения риска развития ХБП при СД2, мы определили с какой частотой они повышаются у одних и тех же пациентов в группе А1.

Частота встречаемости всех 4 биомаркеров в группе А1 как панели составила 26%, что позволило предложить данную панель биомаркеров для диагностики доклинического повреждения почек при СД2 (Рисунок 26), большая часть из которых при этом имели повышенный показатель >90 СКФ EPI (57%), отражающий стадию гиперфильтации, которая предшествует стадии снижения СКФ, и (71%) высоконормальную альбуминурию (> 10 мг/г).

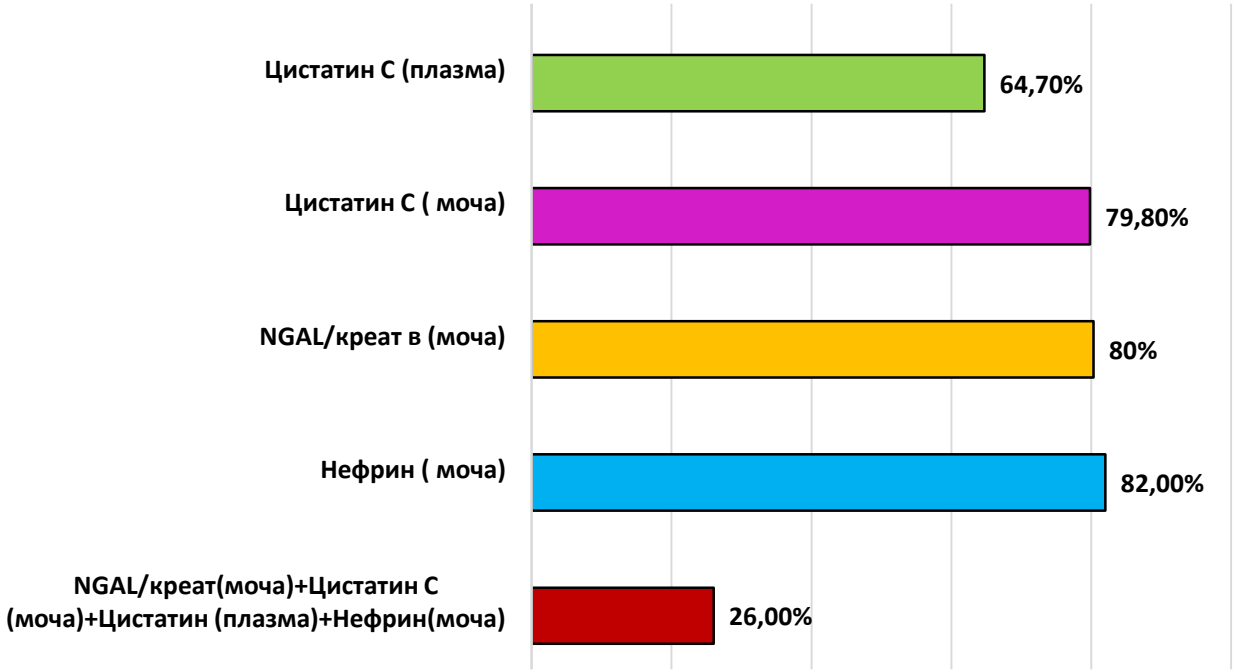


Рисунок 26. Частота встречаемости биомаркеров в группе А1 у пациентов с СД2.

Исходя из этих данных может быть сформирована оптимальная панель биомаркеров в крови и моче, которая подходит для определения группы риска развития ХБП у пациентов с СД2 и данные показатели могут быть рассмотрены в качестве более ранних и более специфических маркеров поражения почек при СД2.

3.2. Результаты проспективного исследования

Во вторую часть нашего исследования было включено 56 пациентов из группы А1 с повышенными уровнями биомаркеров, завершили протокол 50 пациентов, 24 из которых продолжили предшествующую терапии, 26 пациентам был добавлен ИДПП-4 (вилдаглиптин) в дозе 100 мг/сутки в течении 6 месяцев (27 недель ± 2недели). В начале и в конце исследования всем пациентам оценивался уровень стандартных показателей и биомаркеров функции почек.

Терапия пациентов включенная в проспективную часть исследования представлена в Таблица 7.

Таблица 7. Терапия пациентов, включенных в проспективную часть исследования.

Группа, продолжившая предшествующую ССТ В начале исследования	**n -24**	**Группа + ИДПП- 4**	**n- 26**
ПССП -всего	6 (25%)	ПССП -всего	16 (62,1%)
-		ИДПП-4 -моно	4(17,2%)
Метформин - моно	4 (16,7 %)	Метформин+ ИДПП- 4	6(24,1%)
-		СМ + ИДПП- 4	2(6,9%)
СМ + Метформин	2 (8,3%)	СМ + Метформин+ ИДПП-4	4(13,8%)
Инсулин -всего	18 (75%)	Инсулин+ ИДПП- 4 -всего	10(37,9%)
Инсулин - моно	4 (16,7 %)	Инсулин -моно+ ИДПП- 4	3(10,3%)
+ Метформин	12 (50 %)	+ Метформин+ ИДПП- 4	7(27,6%)
+СМ+Метформин	2 (8,3%)	-	-
Другая терапия		**Другая терапия**	
Статины	24 (100%)	Статины	26 (100%)
Аспирин	24 (100%)	Аспирин	20 (75,9%)
иАПФ	15 (62,5%)	иАПФ	15 (58,6%)
БРА	5 (20,8%)	БРА	7 (27,6%)

Клиническая характеристика основных показателей обследованных больных с СД2 в начале терапии и через 6 месяцев после терапии ИДПП- 4. Межгрупповые и внутригрупповые различия представлена в Таблица 8.

Таблица 8. Клиническая характеристика обследованных пациентов с СД2: межгрупповые (UMW) и внутригрупповые сравнения (TW) в начале терапии и через 6 месяцев после терапии ИДПП- 4 (ME [25;75], %).

Параметр	**Группа, продолжившая предшествующую ССТ n=24**	**группа ИДПП-4 n=26**	**Межгрупповые различия p (Манн-Уитни)**
Возраст (лет)			
исходные данные	64,4 [52,87;69,46]	64,0 [55,63; 69,0]	0,43
через 6 месяцев	64,9 [53,41;69,97]	64,5 [56,13; 68,59]	0,34
Длительность диабета (лет)			
исходные данные	10,8 [5,5; 14,5]	10,0 [4,9; 14,2]	0,08

через 6 месяцев	11,3 [6,1; 15,2]	10,6 [5,3; 14,9]	0,09
ИМТ(кг/м²)			
исходные данные	31,2 [29,25;35,82]	29,3 [27,73;35,3]	0,18
через 6 месяцев	31,56[29,48;37,72]	28,71[26,84;36,47]	0,16
p (Вилкоксон)**	0,102	0,021	
АД сист(мм.рт.ст.)			
исходные данные	130,0 [130,0;140,0]	130,0[130,0;145,0]	0,6
через 6 месяцев	130,0 [125,0; 135,0]	130,0 [125,0; 135,0]	0,51
p (Вилкоксон)**	0,065	0,016	
АД диаст(мм.рт.ст.)			
исходные данные	80,0 [80,0;90,0]	80,0 [70,0;80,0]	0,14
через 6 месяцев	80,0 [80,0;80,0]	80,0 [80,0;80,0]	0,60
p (Вилкоксон)**	0,433	0,179	
Гликированный гемоглобин (%)			
исходные данные	8,90 [7,9; 9,80]	8,20 [7,30;9,10]	0,07
через 6 месяцев	8,70 [7,65;10,10]	8,05 [6,70;8,70]	0,13
p (Вилкоксон)**	0,295	0,402	
Альбуминурия (мг/л)			
исходные данные	12,00 [9,00; 19,00]	11,00 [6,00;19,00]	0,27
через 6 месяцев	10,00 [6,50;18,00]	6,50 [4,00;19,00]	0,13
p (Вилкоксон)**	0,811	0,269	
альб/креат мг/ммоль			
исходные данные	2,1 [1,38; 3,1]	1,95 [1,00;2,35]	0,08
через 6 месяцев	1,88 [0,90;2,64]	1,47 [0,47;1,95]	0,092
p (Вилкоксон)**	0,983	0,349	
глик.гемоглоб, %			
исходные данные	9,20 [8,10; 9,80]	8,20 [7,30;9,10]	0,079
через 6 месяцев	8,70 [7,65;10,10]	8,05 [6,70;8,70]	0,13
p (Вилкоксон)**	0,295	0,402	
ХС, ммоль/л			
исходные данные	5,20 [4,63;6,14]	5,00 [4,10;6,11]	0,93
через 6 месяцев	5,10 [4,60;5,52]	4,40 [3,77;5,60]	0,22
p (Вилкоксон)**	0,332	0,043	
ХС ЛПНП, ммоль/л			
исходные данные	2,80 [2,45;3,73]	3,10 [2,17;3,81]	0,65
через 6 месяцев	2,75 [2,60;3,45]	2,25 [1,80;3,70]	0,42
p (Вилкоксон)**	0,420	0,029	

ХС ЛПВП, ммоль/л			
исходные данные	1,08 [0,98;1,30]	1,23 [0,93;1,43]	0,97
через 6 месяцев	1,14 [1,05;1,35]	1,28 [0,95;1,48]	0,94
p (Вилкоксон)**	0,112	0,353	
ТГ, ммоль/л			
исходные данные	2,36 [2,06;2,97]	1,79 [1,05;2,30]	0,015
через 6 месяцев	2,10 [1,70;3,10]	1,30 [0,90;2,20]	0,02
p (Вилкоксон)**	0,296	0,031	
мочевина, ммоль/л			
исходные данные	5,6 [5,2; 6,4]	5,6 [4,7;6,4]	0,61
через 6 месяцев	5,7 [5,4;6,4]	5,6 [4,7;6,6]	0,19
p (Вилкоксон)**	0,985	0,431	
Моч. к-та, мкмоль/л			
исходные данные	365,0 [274,1;423,2]	318,2 [262,0;404,0]	0,33
через 6 месяцев	316,6 [297,7;420,8]	298,3 [253,0;423,7]	0,83
p (Вилкоксон)**	0,102	0,055	
С-реактивный белок, мг/л			
исходные данные	2,05 [1,70; 3,50]	4,70 [2,00;8,40]	0,12
через 6 месяцев	1,66 [0,96;4,15]	2,48 [1,80;4,50]	0,49
p (Вилкоксон)**	0,910	0,024	
креатинин, мкмоль/л			
исходные данные	67,3[62,2;74,3]	73,2[61,6;87,5]	0,5
через 6 месяцев	68,7 [65,0;80,0]	72,4 [59,2;89,3]	0,80
p (Вилкоксон)**	0,017	0,955	
СКФ EPI (мл/мин/1.73 м^2)			
исходные данные	91,00 [76,00;96,00]	87,00 [69,00;94,00]	0,52
через 6 месяцев	84,00 [68,00;92,00]	84,00 [69,00;93,00]	0,92
p (Вилкоксон)**	0,007	0,542	

* - межгрупповые различия, критерий Манн-Уитни.

** - внутригрупповые различия, критерий Вилкоксона.

При включении в исследование пациенты из двух групп были сопоставимы по основным клиническим параметрам: возрасту, ИМТ, показателям АД, уровням гликированного гемоглобина, АУ, СКФ и представленным биохимическим показателям.

Оценивая внутригрупповые различия клинических показателей через 6 месяцев было выявлено статистически значимое снижение показателей ИМТ, АД сист. ХС, ТГ ,С-реактивного белка в группе ИДПП-4, в то время как в группе без ингибиторов изменений выявлено не было.

При этом в группе без ингибиторов ДПП-4 отмечалось статистически значимое снижение СКФ в пределах ХБП 2 стадии, в то время как в группе ИДПП4 СКФ практически не изменялась, оставаясь приблизительно на одном уровне в течении всего периода наблюдения.

Межгрупповые и внутригрупповые различия биомаркеров крови и мочи в группе стандартной терапии и группе ИДПП-4 в начале исследования и через 6 месяцев после терапии представлены в Таблица 9 и Таблица 10.

Таблица 9. Мочевые биомаркеров, ассоциированные с диабетическим повреждением почек (ELISA) у пациентов с СД2 межгрупповые (UMW) и внутригрупповые сравнения (TW) в начале терапии и через 6 месяцев после терапии ИДПП- 4 (ME [25;75], %).

Параметр	**Группа, продолжившая предшествующую ССТ n=24**	**Группа ИДПП-4 n=26**	**p (Манн-Уитни)***
NGAL/креатинин, мкг/ммоль			
исходные данные	0,39 [0,27;0,75]	0,53 [0,27;1,32]	0,175
через 6 месяцев	0,59 [0,35;1,57]	0,40 [0,18;0,56]	0,048
p (Вилкоксон)**	0,109	0,023	
KIM-1/креатинин, мкг/ммоль			
исходные данные	0,09 [0,05;0,15]	0,08 [0,05;0,12]	0,664
через 6 месяцев	0,11 [0,06;0,22]	0,06 [0,04;0,11]	0,111
p (Вилкоксон)**	0,162	0,618	
Цистатин С/креатинин, мг/ммоль			
исходные данные	0,13 [0,08;0,23]	0,19 [0,13;0,25]	0,280
через 6 месяцев	0,49 [0,29;0,72]	0,24 [0,12;0,30]	0,296
p (Вилкоксон)**	0,002	0,087	
Подоцин/креатинин, мкг/ммоль			
исходные данные	0,06 [0,02;0,10]	0,04 [0,02;0,07]	0,595
через 6 месяцев	0,17 [0,09;0,39]	0,04 [0,02;0,09]	<0,001
p (Вилкоксон)**	0,001	0,831	

Нефрин/креатинин, мкг/ммоль			
исходные данные	0,06 [0,02;0,22]	0,07 [0,04;0,13]	0,891
через 6 месяцев	0,09 [0,04;0,15]	0,04 [0,01;0,07]	0,012
p (Вилкоксон)**	0,876	0,026	
Уромодулин/креатинин, мкг/ммоль			
исходные данные	215,18 [144,06;982,93]	338,19 [138,14;460,34]	0,889
через 6 месяцев	415,46 [136,04;1189,16]	252,78 [140,05;733,52]	0,342
p (Вилкоксон)**	0,256	0,668	
Коллаген/креатинин, мкг/ммоль			
исходные данные	0,31 [0,20;0,50]	0,30 [0,12;0,35]	0,311
через 6 месяцев	0,42 [0,18;0,90]	0,34 [0,21;0,40]	0,153
p (Вилкоксон)**	0,426	0,433	
NGAL, нг/мл			
исходные данные	1,61 [1,35;2,71]	3,06 [1,74;10,85]	0,058
через 6 месяцев	3,71 [1,91;5,80]	2,06 [1,78;3,78]	0,152
p (Вилкоксон)**	0,155	0,014	
KIM-1, нг/мл			
исходные данные	0,53 [0,27;0,72]	0,51 [0,33;0,94	0,931
через 6 месяцев	0,51 [0,33;1,17]	0,55 [0,30;0,81]	0,782
p (Вилкоксон)**	0,463	0,849	
Цистатин С, мг/л			
исходные данные	0,87 [0,28;1,64]	1,33 [0,71;2,26]	0,104
через 6 месяцев	2,30 [2,27;2,33]	1,45 [1,07;2,36]	0,520
p (Вилкоксон)**	0,004	0,072	
Подоцин, нг/мл			
исходные данные	0,21 [0,13;0,71]	0,26 [0,15;0,46]	0,856
через 6 месяцев	0,97 [0,79;1,34]	0,26 [0,17;0,61]	<0,001
p (Вилкоксон)**	<0,001	0,527	
Нефрин, нг/мл			
исходные данные	0,37 [0,18;0,89]	0,46 [0,31;0,66]	0,385
через 6 месяцев	0,38 [0,26;0,66]	0,29 [0,16;0,38]	0,019
p (Вилкоксон)**	0,795	0,002	
Уромодулин, нг/мл			
исходные данные	1884,00 [1192,00;2824,00]	1676,00 [1122,00;2490,00]	0,797

через 6 месяцев	2418,00 [1650,00;4652,00]	2297,00 [1040,00;5300,00]	0,675
p (Вилкоксон)**	0,609	0,381	
Коллаген, мкг/л			
исходные данные	1,95 [1,00;3,86]	1,51 [1,29;2,54]	0,473
через 6 месяцев	2,43 [1,25;3,31]	2,27 [1,09;3,81]	0,697
p (Вилкоксон)**	0,650	0,067	

Таблица 10. Плазменные биомаркеры, ассоциированные с диабетическим повреждением почек (ELISA) у пациентов с СД2 межгрупповые (UMW) и внутригрупповые сравнения (TW) в начале терапии и через 6 месяцев после терапии ИДПП- 4 (ME [25;75], %).

Параметр	**Группа, продолжившая предшествующую ССТ n=24**	**Группа ИДПП-4 n=26**	**Межгрупповые различия p (Манн-Уитни)**
NGAL, нг/мл			
исходные данные	25,65 [17,04;29,49]	31,98 [23,22;47,97]	0,067
через 6 месяцев	40,32 [30,81;52,56]	41,52 [29,49;50,16]	0,852
p (Вилкоксон)**	<0,001	0,012	
KIM-1, пг/мл			
исходные данные	195,38 [94,51;283,43]	254,88 [63,61;636,33]	0,443
через 6 месяцев	338,44[167,01;750,81]	229,85[133,76;807,80]	0,535
p (Вилкоксон)**	0,007	0,153	
Цистатин С, мг/л			
исходные данные	1,06 [0,97;1,34]	1,08 [0,95;1,30]	0,911
через 6 месяцев	1,06 [0,99;1,35]	1,02 [0,79;1,21]	0,345
p (Вилкоксон)**	0,554	0,174	
Остеопонтин, нг/мл			
исходные данные	97,43 [64,58;129,28]	92,12 [54,57;130,89]	0,571
через 6 месяцев	72,69 [55,16;94,81]	70,76 [44,01;91,34]	0,481
p (Вилкоксон)**	0,088	0,092	
VEGF-A, пг/мл			
исходные данные	142,82 [62,00;196,90]	102,54 [50,21;151,61]	0,289
через 6 месяцев	102,54[82,21;174,50]	87,05[69,34;176,57]	0,518
p (Вилкоксон)**	0,309	0, 518	
TGF, пг/мл			

исходные данные	5451,06 [3622,86;9871,23]	4638,06 [2705,58;14425,97]	0,902
через 6 месяцев	3381,65 [1721,25;8153,69]	4836,74 [1230,02;13639,52]	0,772
p (Вилкоксон)**	0,683	0,586	
TIMP, нг/мл			
исходные данные	228,50 [176,19;304,65]	180,82 [60,40;238,58]	0,159
через 6 месяцев	157,20[111,17;283,18]	205,10[153,59;446,85]	0,254
p (Вилкоксон)**	0,002	<0,001	

* - межгрупповые различия, критерий Манн-Уитни.

** - внутригрупповые различия, критерий Вилкоксона.

При анализе плазменных биомаркеров межгрупповых статистически значимых различий достигнуть не удалось.

Оценивая уровень Цистатин С в крови, показавший большую чувствительность и специфичность у пациентов с СД2 по сравнению с АУ, статистически значимые межгрупповые и внутригрупповые различия также не были достигнуты в нашем исследовании.

По уровню мочевых биомаркеров до и после терапии в группе, получавшей ингибиторы ДПП4 были получены следующие достоверные статистические различия: снижение исходно повышенных уровней нефрина и NGAL/креатинина, в то время как в группе без инкретинов отмечалась тенденция к увеличению экскреции данных маркеров, не достигавшая статистической значимости.

А в отношении мочевого цистатина С и подоцина динамика носила иной характер – стабильные показатели в группе ИДПП и достоверное увеличение экскреции показателей в группе, получавшей исходную терапию.

Таким образом, добавление к стандартной сахароснижающей терапии ИДПП4 (вилдаглиптин, 100 мг/сутки) в течение 6 месяцев приводит к стабилизации СКФ и снижению уровня экскреции клубочковых и тубулярных биомаркеров в моче (нефрин, NGAL/креатинин) без изменения уровня контроля гликемии, что свидетельствует о наличии дополнительного нефропротективного эффекта у данного препарата.

ГЛАВА VI. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Обсуждение результатов одномоментного исследования

Попытки найти более чувствительные и специфические биомаркеры для ранней диагностики диабетического поражения почек предпринимались неоднократно [151], [48], [261], [262], [263]. Генез и клиническое течение ХБП у пациентов при СД2 отличается от поражения почек при СД1, поскольку обусловлено не столько классическими клубочковыми повреждениями, но и гетерогенными нарушениями характерными именно для СД2.

Поиск более специфичных маркеров ХБП при СД2 становится наиболее актуальным, так как 10-15% пациентов имеют фенотип течения нефропатии без альбуминурии, в том числе вследствие широкого применения средств блокирующих РААС для лечения АГ, а МАУ – не является абсолютно специфичным предиктором ДН, особенно у пациентов с СД2, при котором МАУ является маркером системной дисфункции эндотелия и повышения сердечно-сосудистого риска. Оценка СКФ не улучшает раннюю диагностику патологии, поскольку на ранних стадиях СКФ в норме или повышена. Развитие МАУ возможно при целом раде состояний, не связанных с ДН (при больших физических нагрузках, высокобелковой диете, мочевой инфекции, неконтролируемой или длительной АГ, застойной сердечной недостаточности, лихорадке, системных заболеваниях), при этом индивидуальная вариабельность МАУ достигает 40-100% при последовательно выполненных измерениях [1]. Установлено, что значения экскреции альбумина с мочой при СД 2-го типа не всегда синхронизированы с изменением фильтрационной функции почек; в частности, у 50% больных скорость клубочковой фильтрации (СКФ) может быть снижена даже при нормальном уровне альбумина в моче [23]. 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 [215]. Оценка СКФ не улучшает раннюю диагностику патологии, поскольку на ранних стадиях СКФ в норме или повышена.

Все вышеизложенное определяет актуальность поиска ранних неинвазивных маркеров доклинической (до появления МАУ) диагностики ХБП при СД2.

В последние годы все большее значение в патогенезе ДН придается тубулоинтерстициальным нарушениям, которые, по данным ряда исследований, предшествуют развитию гломерулярных повреждений [9].

Особенно это актуально для пациентов с СД2, у которых все чаще выявляется почечная патология с преимущественным поражением интерстиция и канальцев почек, а скорость снижения почечной фильтрации связана с выраженностью тубулоинтерстициального фиброза, характеризующегося прогрессирующим накоплением белков экстрацеллюлярного матрикса. Его развитие – это результат активации мощных цитокиновых провоспалительных каскадов, инициируемых гетерогенными повреждающими факторами: иммунными, ишемическими, токсическими, метаболическими, нарушением почечной гемодинамики, артериальной гипертонией, а также функциональной перегрузкой почек. Также, активно обсуждается роль эндотелиальной дисфункции, приводящей к гемодинамическим нарушениям в почке и, как следствие, к нарушению в структуре интерстиция [43]. В нашей работе статистически значимые различия между группой здорового контроля и группой А1 (нормоальбуминурии) с СД2 также показали преимущественно биомаркеры, отражающие тубубулоинетстициальнуюярную дисфункцию.

Так одним из маркеров функционирующей тубулярной массы является низкомолекулярный протеин NGAL, продуцируемый эпителиальными клетками и нейтрофилами, который вырабатывается в почечных канальцах ответ на структурное повреждение.

Современные исследования показывают , что концентрация NGAL в моче у пациентов с СД2 выше, чем у здоровых людей более чем в 1,5 раза [264]. В нашем исследовании мы наблюдали повышение уровня NGAL в моче в 2 раза по сравнению с группой здоровых лиц.

Имеются данные , что экскреция NGAL возрастает параллельно с прогрессированием уровня альбуминурии от нормо- к макроальбуминурии [264], [265]. Также выявлена статистически значимая корреляция NGAL с уровнем креатинина и альбумина сыворотки крови и СКФ [264]. В нашей работе мы также отмечали увеличение экскреции NGAL по мере прогрессирования ДН, максимальный уровень показателя определялся на стадии ПУ(А3), при этом между группами здорового контроля и НАУ(А1) статистически значимых различий достигнуть не удалось. При анализе корреляционных взаимосвязей выявлена достоверная положительная взаимосвязь между уровнем NGAL в моче и уровнем альбумина , альбумин/креатинина, а также креатинином.

Между тем известно, что оценка специфических мочевых маркеров часто производится в отношении к креатинину мочи. Оценивая соотношение NGAL/креатинин повышение экскреции показателя отмечалось уже на стадии НАУ(А1), статистически значимо превышая показатели у здорового контроля и также нарастали по мере прогрессирования ДН от стадии А1(НАУ) к А3(ПУ). Корреляционный анализ также показал статистически значимую взаимосвязь уровня соотношения NGAL/креатинин с АУ и альбумин/креатинином в моче.

Уромодулин (белок Тамма–Хорсфалла) – это специфический почечный протеин, синтезирующийся исключительно в эпителиальных клетках толстого восходящего отдела петли Генле и начального отдела дистального извитого канальца [266]. Результаты работ по изучению данного биомаркера неоднозначны, ряд исследований [267], [268], хотя и не всех [269], [269], свидетельствуют о том, что концентрация уромодулина в моче позитивно, хотя и сравнительно слабо, связаны с уровнем СКФ, в то время как в одном исследовании показано, что высокий уровень уромодулина в моче может являться предиктором развития ХБП [269].

В 20-ти летнем обсервационном исследовании было установлено снижение концентрации уромодулина в моче, которое ассоциировалось со снижением почечной функции и сердечно-сосудистыми катастрофами у пациентов с СД 1 типа [270] , были получены данные , что 20% больных сахарным диабетом 1 типа имеют постоянное снижение уромодулина в течение первого года после диагностики заболевания [271].

Наша исследование показало, что экскреции уромодулина в моче статистически значимо снижалось у больных с СД2 по сравнению с группой здоровых лиц. Нам удалось выявить снижение экскреции уромодулина уже на стадии (НАУ) А1 по сравнению с контрольной группой здоровых лиц, уровень данного показателя прогрессивно снижался от стадии А1 (НАУ) к А3 (ПУ), при этом статистически значимых различий между группами больных СД2 достичь не удалось.

По данным литературы на повышение секреции уромодулина могут влиять различные факторы такие как высокосолевая , высокобелковая диета , применении петлевых диуретиков [72]. В то время как у величение возраста и повышении уровня HbA1c асооциируется со снижением экскреции уромодулина [78], [79]. Вероятно, это могло бы объяснить отсутствие достоверных различий между группами в нашем исследовании.

Также как и в работах других авторов [268], [267], положительная корреляционная взаимосвязь уромодулина была выявлена с СКФ-EPI. Таким образом, полученные данные подтверждают, что в норме экскреция уромодулина с мочой имеет наиболее высокие показатели. Понижение экскреции данного показателя развивается при нормоальбуминурии, т.е до развития начальной стадии ДН, верифицируемой стандартной методикой, что дает потенциальную возможность использовать данный белок в качестве доклинического маркера ХБП при СД2 и требует дальнейшего изучения.

Еще одним маркером как тубулярного так и гломерулярного повреждения является полипептид с молекулярной массой 13,260 кДа - цистатин С, ингибитор протеаз, продуцируемый всеми ядерными клетками, который свободно фильтруется в клубочках почек и практически полностью реабсорбируется и катаболизируется в клетках проксимальных канальцев [166], [168].

Подтверждена значимая роль Цистатин С как маркера СКФ [176]. Большое количество проведенных зарубежных исследований последовательно установило, что по сравнению с креатинином, Цистатин С имеет более высокую корреляцию с СКФ, измеряемой с помощью "золотого стандарта" [29] и предложены формулы для расчета СКФ по цистатину С [177], [33], [30], [31]. Также было выявлено, что он меньшей степени зависит от пола, возраста и мышечной массы по сравнению с сывороточным креатинином [173], [172], однако на него могут влиять показатели ИМТ, уровня тиреоидных гормонов, применение кортикостероидов, курение и потребление алкоголя [175], [36], [174].

В ряде работ показано, что при СД2, уровень цистатина С является более точным маркером почечной функции, чем уровень креатинина и может использоваться для раннего обнаружения снижения СКФ [272], [273].

В исследовании M. Kravaritou и соавт. наблюдали 179 пациентов с СД 2, 79 из которых имели нормальную функцию почек согласно СКФ (MDRD). Было установлено, что концентрации альбумина в моче достоверно коррелировали с уровнями цистатина С, как у пациентов нормоальбуминурией, так и у больных с микроальбуминурией, в то время как она не коррелировала ни с креатинином сыворотки крови, ни с клиренсом креатинина. У больных с СКФ(MDRD) <60 мл / мин / 1,73 $м^2$, уровни альбумина в моче также коррелировали с цистатином С, как при нормоальбуминурии, так и при микроальбуминурии, но корреляция с сывороточным креатинином и клиренсом креатинина была только у пациентов с микроальбуминурией. Авторы полагают, что минимальные изменения функции почек , определяемые с помощью цистатина С, могут быть параллельны степени альбуминурии, даже на стадии нормоальбумирурии [274].

В настоящее время известно, что цистатин с фильтруется почечными клубочками, но затем подвергается полной канальцевой реабсорбции и метаболизму, при этом в норме не экскретируется с мочой и не секретируется проксимальными почечными канальцами. При повреждении канальцев, концентрации цистатина С в моче могут возрастать в десятки раз [191], [190], [192]. По данным M.Conti и соовт. повышенные уровня цистатина С в моче, позволяют с большой точностью определять тубулярные дисфункции среди чистых и смешанных нефропатий, что позволяет использовать данный маркер для скрининга ренальной патологии [196].

В нашем исследовании мы также выявили статистически значимое повышение уровня цистатина с у больных СД2 в моче и плазме крови по сравнению с группой здорового контроля. Наибольший показатель уровня цистатина с в моче был отмечен у пациентов с ПУ(А3), что превышало уровни показателя в группе здоровых лиц более чем в 10 раз. Повышение уровня цистатина С и моче и крови прогрессировало по мере нарастания АУ. Анализируя корреляционные

взаимосвязи, была выявлена достоверная положительная связь между уровнем Цистатина С и классическими маркерами поражения почек: для цистатина с в моче - с АУ и уровнем сывороточного креатинина, а для цистатина с в плазме - АУ, альбумин/креатинином, креатинином и СКФ (EPI).

В исследовании El-Ashmawy et al. было обнаружено десятикратное повышение уровня KIM-1 в моче у пациентов с «микроальбинурией», по сравнению с группой «нормоальбинурии» и группой контроля. Уровень KIM -1 при этом положительно коррелировал с микроальбинурией, уровнем креатинина в крови, продолжительностью диабета и ИМТ у больных СД2 типа [57]. В нашем исследовании экскреция KIM-1 приведенного к креатинину мочи также статистически значимо повышалась в разы параллельно развитию микроальбуминурии, по сравнению с группой А1 (нормоальбуминурией) и здоровым контролем. Тем не менее статистически значимых различий между группой здорового контроля и группой А1 достичь не удалось.

Таким образом, определение KIM-1 в моче у пациентов с СД2 типа, может также рассматриваться в качестве перспективного раннего биомаркера для диагностики и прогноза ХБП у пациентов с СД2 типа, принимая во внимание другие факторы риска [57], а также отражать наиболее раннее повреждение тубулярного и гломерулярного аппарата при диабетическом поражении почек [53], что требует дальнейшего изучения данного биомаркера.

Образцы биопсии почек человека показали высокие уровни VEGF-A-мессенджера на ранних стадиях ДН и более низкую экспрессию VEGF-A при более поздних стадиях ДН [212]. Аналогичным образом , повышение продукции VEGF-A в почках на ранних и поздних стадиях развитии ДН выявлено в эксперименте у лабораторных животных [197]. Выявлен нефропротективный эффект терапии ингибиторами VEGF у мышей с СД [199]. В нашем исследовании у больных СД 2 были получены похожие результаты. Уровень VEGF-A в крови статистически значимо повышался уже на стадии А1 по сравнению с группой здорового лиц и увеличивался к стадии А2 (микроальбуминурии). При этом в группе А3 (протеинурии) мы наблюдали статистически значимое снижение уровня VEGF-A по сравнению с группой А2, считается, что снижение экспрессии VEGF-A при прогрессировании ДН связано с истощением резерва подоцитов [275], [276].

Усиление экспрессии нефрина установлено уже на ранней стадии развития диабетической нефропатии [277]. По данным ряда исследований, нефрин рассматривается как маркер подоцитарной дисфункции [125]. Являясь структурным белок подоцитов, он формирует фильтрационные щели БМК [135], в норме экскреция нефрина с мочой практически отсутствует [137]. По мере прогрессирования диабетической нефропатии экспрессия нефрина снижается, вероятно, вследствие сморщивания и утраты функции подоцитов [278], [155].

Множество исследований показали, что нефринурия выявлялась у 100% больных СД2 с ПУ и МАУ и у 54% больных с нормоальбуминурией [152]. При изучении биопсийного материала почек животных моделей и у больных СД было выявлено уменьшение экспрессии нефрина в клубочках и установлена связь этих нарушений со структурными изменениями подоцитов [150], [149], [153], [133].

Результаты этих исследований позволили рассматривать повышенную нефринурию у больных СД в качестве раннего маркера развития ДН.

В нашей работе, оценивая уровень экскреции нефрина в моче было выявлено достоверное повышение нефринурии у больных с СД2 по сравнению с группой здоровых лиц. В группах НАУ(А1) и МАУ(А2) отмечалось статистически значимое повышение уровня экскреции нефрина с мочой по сравнению с группой здорового контроля, однако на стадии ПУ(А3), выявлялось статистически значимое снижение экскреции нефрина по сравнению начальной стадией ДН, что может отражать развитие более выраженного повреждения почечного фильтра, когда число подоцитов БМК уже резко снижено и нефринурия отсутствует, повышается экскреция других, более высокомолекулярных белков.

Таким образом, полученные данные подтверждают, что в норме экскреция нефрина с мочой практически отсутствует. Повышение экскреции данного показателя развивается уже при нормоальбуминурии, т.е до развития начальной стадии ДН, верифицируемой стандартной методикой, что указывает на возможность использования данного белка в качестве доклинического маркера ДН.

В настоящее время количество новых биомаркеров возрастает прогрессивно, однако большинство исследований ограничено либо их небольшим размером выборки, либо отсутствием длительного наблюдения, в результате чего отсутствует способность оценивать прогрессию и степень тяжести ДН. Конечно, протеомный подход представляется перспективным для определения панелей биомаркеров, способных прогнозировать снижение функции почек при СД2. Они были бы полезны для определения скорости прогрессирования повреждения почек, которое происходит медленно [279].

Результаты нашей работы позволили выделить панель наиболее ранних биомаркеров диабетического повреждения почек, т.е. возможность диагностировать ХБП на доклинической стадии заболевания. Внедрение в клиническую практику разработанной нами панели биомаркеров, помогут выделить группы риска по развитию ХБП при СД2, что даст основания для более тщательного наблюдения, обследования, выявления сопутствующей патологии на самых ранних

стадиях и более активного ведения данных пациентов с целью отсрочить наступление и прогрессирование повреждения почечной ткани при СД2.

С учетом развития новых технологий и появления современных методов, таких как метод масспектрометрии, позволяющий проводить протеомный анализ – усовершенствованный метод исследования белков, применяемый сегодня в основном только в научных целях. Возможно, в будущем, данный метод будет включен в рутинную клиническую практику, что позволит серьезным образом повысить уровень лабораторной диагностики при различных патологиях человека.

Согласно результатам Rossing P., представленным 29 сентября 2010 г. в Стокгольме на конгрессе Европейской ассоциации по изучению диабета, протеомный анализ является высокоспецифичным методом, позволяющим не только диагностировать ХБП при СД на ранней (доклинической) стадии, но и прогнозировать развитие диабетической патологии почек [7].

В ближайшие годы планируется провести системный анализ данных , полученных в результате протеомного анализа мочевых биомаркеров и создать единую базу данных, позволяющую упростить раннюю диагностику ХБП при СД [9].

4.2. Обсуждение результатов проспективного исследования

В настоящее время остается нерешенным вопрос и о наиболее эффективных методах нефропротекции при СД2. В научном мире уже давно обсуждается идея о синтезе препаратов, которые, обладая эффективным сахароснижающим действием, помимо этого, могли бы проявлять нефропротективные свойства, не опосредованное контролем гликемии. На сегодняшний день практически ни один из современных сахароснижающих препаратов (инсулин, метформин, препараты сульфонилмочевины, глиниды, глитазоны), не оказывает защитного действия на почки [216].

Терапия иАПФ, и БРА воздействует уже на развившийся клинический субстрат поражения почек – МАУ или протеинурию, и не применяется в отсутствие повышенной экскреции альбумина, при этом начальные нарушения при ХБП не имеют таргетной терапии.

Поиск альтернативных возможностей нефропротекции и методов активного воздействия на наиболее ранних стадиях ХБП позволил бы предотвратить или отсрочить прогрессирование утраты почечной функции.

В последние годы возможность нефропротекции связывают с препаратами инкретин-направленного действия, в частности с ингибиторами фермента дипептидилпептидазы-4 (иДПП4), демонстрирующих плейотропные эффекты независимые от их сахароснижающего действия. В

эксперименте на животных применение иДПП4 показало уменьшение экскреции альбумина, маркеров оксидативного стресса, уменьшение экспрессии ряда провоспалительных факторов, а также регресс характерных морфологических изменений в почечной ткани [280], [281], [1].

Ингибируя фермент - дипептидилпептидазу 4 типа (ДПП-4), иДПП4 повышают уровень глюкагоноподобного пептида-1 [282]. Повышение уровня глюкагоноподобного пептида-1 обеспечивает регуляцию секреции инсулина и глюкагона, а также стимулирует противовоспалительные факторы в почечной ткани и натрийурез [253]. Плейотропный эффект ингибиторов ДПП-4 на почку может реализовываться также за счёт снижения деградации других гормоноподобных субстанций с иммуномодулирующими, вазоактивными, натрийуретическими и антиоксидантными свойствами [40]. Эффекты на почку ингибиторов ДПП-4 с преимущественно почечным путём элиминации также могут осуществляться при непосредственном контакте препарата с трансмембранной формой ДПП-4 на поверхности клеток проксимальных канальцев и капилляров клубочка [283], [284]. Было установлено, что ингибитор ДПП-4 (вилдаглиптин), у которого на 85% преобладает почечный путь выведения [282], в эксперименте на животных замедлял развитие морфофункциональных признаков ДН за счёт уменьшения процессов оксидативного стресса и воспаления [285], [232].

Клинических данных, однозначно демонстрирующие нефропротективный потенциал иДПП-4, в настоящее время не много [216], [286], [284].

В результате нескольких клинических исследований у пациентов с СД 2, принимавших ИДПП-4 , было выявлено снижение альбуминурии , что подтверждало способность препаратов данной группы оказывать нефропротективное действие [257], [255], [256].

Результаты опубликованных доклинических и клинических исследований дают основания полагать, что иДПП-4 могут иметь потенциал для использования как в качестве сахароснижающей так и одновременно нефропротективной терапии [3], [216], [260]. Крупные клинические рандомизированные исследования, изучающие почечные эффекты ингибиторов ДПП-4, продолжают идти и в настоящее время [1].

В нашем исследовании, при оценке внутригрупповых различий клинических показателей в контрольной группе, получавшей исходную терапию, и группе терапии ИДПП4, через 6 месяцев было выявлено статистически значимое снижение показателей ИМТ, АД сист. ХС, ХС ЛПНП ,ТГ, С-реактивного белка в группе терапии ИДПП4, в то время как в контрольной группе выявить статистически значимых различий не удалось.

При этом функция почек - СКФ EPI, определенная по стандартным показателям креатинина, в группе терапии иДПП4 за 6 месяцев исследования статистически значимо не изменилась, в то же

время в контрольной группе, продолжавшей исходную терапию, в динамике наблюдалось статистически значимое снижение почечной функции. Сходные данные были получены и в исследовании H. Esaki et al., где сравнивались 501 (58,6%) пациент с СД2 получавшие иДПП4 в качестве терапии в течении 12 месяцев и 354 (41,4%) пациента с СД2 не получавших инкретины. В качестве показателя функции почек - оценивалось снижения СКФ EPI за данный период времени. Было выявлено, что показатель снижения СКФ EPI уменьшился на 20 % в группе, где применялась терапия иДПП4, что свидетельствовало о том, что иДПП4 подавляют снижение почечной функции [260].

В литературе уже давно обсуждается возможность оценки уровня экскреции ряда белков, экспрессируемых эпителиоцитами канальцев (уромодулин, NGAL, KIM-1) и висцеральными эпителиальными клетками клубочков (нефрин, подоцин), для раннего выявления поражения почек при СД. Выделяясь с мочой , они отражают степень тубулоинтерстициального, гломерулярного повреждения и фиброза [287], [288], [266]. В качестве кандидата на маркер ранней диагностики ДН при СД2 рассматривается также коллаген IV типа, экскреция которого коррелирует с выраженностью гломерулосклеротических изменений [284], [289] и цистатин С, повышенный уровень в моче которого, позволяет с большой точностью определять тубулярные дисфункции среди нефропатий различного генеза [196].

В доступной литературе практически отсутствуют данные о влиянии терапии вилдаглиптина на перечисленные маркеры канальцевого и клубочкового поражения у людей.

В эксперименте на модели ДН СД2 у животных, определяемый в моче коллагена IV типа нарастал по мере снижения скорости клубочковой фильтрации и увеличения альбуминурии , а терапия вилдаглиптином в течение 6 месяцев приводила к снижению экскреции данного показателя [284].

По результатам нашего исследования при оценке межгрупповых различий мы видим статистически значимые уменьшения NGAL, нефрина и подоцина в моче, в группе, где применялась терапия иДПП4.

При оценке внутригрупповых различий биомаркеров мочи в контрольной группе, получавшей предшествующую терапию, и группе иДПП4 через 6 месяцев по нашим данным, отмечается статистически значимое снижение показателей нефрина, NGAL, в то время как в контрольной группе через 6 месяцев статистически значимых различий выявить не удалось.

При этом отмечалось увеличение экскреции подоцина в контрольной группе с предшествующей терапией, в то время как экскреция подоцина в группе терапии иДПП4 существенно не менялась.

Оценивая внутригрупповые различия плазменных биомаркеров в контрольной группе и группе иДПП4 через 6 месяцев по данным Таблица 10 отмечается статистически значимое повышение показателей KIM-1 в группе стандартной терапии, при этом в группе иДПП4 изменения данного показателя не достигали статистической значимости.

Других статистически значимых внутригрупповых различий биомаркеров крови в нашем исследовании достичь не удалось.

Таким образом, при межгрупповых сравнениях в группе терапии иДПП4 отмечается статистически значимое снижение биомаркеров: NGAL, нефрина. Сравнивая показатели внутри групп, мы видим статистически значимое уменьшение таких клинических показателей как ИМТ, АД сист. ХС, ХС ЛПНП, ТГ, С реактивного протеина, а также мочевых биомаркеров: NGAL и нефрина. в то время как в контрольной группе, получавших только предшествующую терапию данные показатели в динамике статистически значимо не изменились.

NGAL (моча) - маркер, отражающий повреждение тубулярного аппарата почек, статистически значимо снижался в группе, где применялась терапия иДПП4, в то время как в контрольной группе, экскреция уровня NGAL через 6 месяцев повышалась, хотя и не достигала статистически значимых различий.

Нефрин - подоцитспецифичный белок, компонент фильтрационной диафрагмы почек статистически значимо снижался в группе, где применялась терапия иДПП4, в то время как в контрольной группе уровень экскреции нефрина оставался практически без изменений.

Мочевой биомаркер подоцин - компонент клубочковых подоцитов, отражающий повреждение ключевых структурные элементов гломерулярного фильтра, статистически значимо увеличивался через 6 месяцев в контрольной группе, при это в группе иДПП4 данный показатель оставался практически на одном уровне.

KIM-1 - маркер повреждения проксимальных канальцев, статистически значимо увеличивался только в контрольной группе, в то время как в группе иДПП4 медианна данного показателя уменьшалась, но статистическая значимость при этом не была достигнута.

Полученные данные позволяют предположить использование препаратов иДПП4 с целью оптимальной превентивной нефропротекции у пациентов с СД2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В связи с прогрессирующим характером течения ХБП, ограниченной эффективностью терапии на выраженных стадиях и неспецифичностью оценки экскреции альбумина в моче (МАУ) при патологии почек у пациентов с СД2, доклиническая диагностика данного осложнения, когда изменения в почках потенциально обратимы, имеет особую актуальность.

Во всем мире ведется работа по поиску лабораторных маркеров, позволяющих выявлять ХБП при СД2 на доклинических стадиях. Все эти усилия по ранней диагностике диабетического поражения почек необходимы для того, чтобы своевременно выделить среди пациентов с СД2 группы высокого риска развития ХБП с целью выбора максимально эффективного превентивного персонализированного лечения, в том числе выбора сахароснижающего препарата с потенциальными нефропротективными свойствами.

Полученные изменения в уровне гломерулярных и тубулоинтерстициальных биомаркеров (NGAL/креатинин, нефрин, цистатин С в моче и цистатин С в плазме крови) у пациентов с СД2, выявляемые до развития микроальбуминурии и снижения СКФ и коррелирующие с классическими лабораторными показателями почечной дисфункции (АУ и СКФ), открывают перспективы для использования их в качестве информативной панели ранней диагностики ХБП при СД2.

Добавление иДПП4 к исходной сахароснижающей терапии у пациентов с СД2 приводит к стабилизации уровня СКФ и снижению уровня экскреции нарушенных высокочувствительных почечных биомаркеров, без изменения уровня контроля гликемии, что открывает дополнительные возможности нефропротекции на доклинической стадии ХБП при СД2. Механизм нефропротективного действия иДПП4, независимый от их сахароснижающего действия, может быть связан с опосредованным воздействием на локализованные в почках и в экстра-панкреатических тканях рецепторы ГПП-1, которое приводит к снижению процессов воспаления в почечной ткани, усилению натрийуреза, подавлению активности РАС, умеренному снижению АД. Также иДПП4 имеют ГПП-1 независимые эффекты, связанные с действием фермента ДПП4, снижающего деградацию других гормоноподобных субстанций с вазоактивными, иммуномодулирующими, антиоксидантными свойствами.

В перспективе требуются дополнительные клинические исследования для оценки долгосрочных эффектов иДПП4 на показатели фильтрационной функции и структурные изменения ткани почек.

ВЫВОДЫ

1. У больных СД 2 типа изменения биомаркеров почечной дисфункции выявлены до развития классических лабораторных показателей повреждения почек на стадии нормоальбумиурии с сохранной СКФ (более 60 мл/мин/1.73 м2): отмечалось повышение мочевой экскреции NGAL/креатинина, нефрина и цистатина С, снижение мочевой экскреции уромодулина, повышение в плазме крови уровней цистатина С и VEGF-A, что указывает на нарушения как клубочкового, так и тубулоинтерстициального аппарата почек уже на доклинической стадии ХБП. Выявленные нарушения уровня биомаркеров коррелировали с уровнем АУ и СКФ и ухудшались по мере прогрессирования проявлений ХБП.
2. Установлено, что у 4-х из исследованных биомаркеров определяются более высокие показатели чувствительности и специфичности по сравнению с оценкой альбуминурии: NGAL/креатинин (чувствительность-85,11%; специфичность-75,0%), нефрин (чувствительность-96%; специфичность-70%), цистатин С (чувствительность-83,67%; специфичность-100%) в моче; цистатин С плазмы (чувствительность-91,84%; специфичность-57,14%), что позволяет позиционировать их в качестве информативной панели ранней диагностики ХБП при СД 2 типа. Частота встречаемости данной панели из 4-х наиболее чувствительных и специфичных биомаркеров - 26%.
3. Определены диагностические пороговые значения панели биомаркеров для диагностики доклинической стадии ХБП: NGAL/креатинин> 0,204 мкг/ммоль, нефрин> 0,148 нг/мл, цистатин С (в моче)> 0,254 мг/л; цистатин С (в плазме)> 0,775 мг/л.
4. Проспективное контролируемое исследование выявило, что добавление в комплекс сахароснижающей терапии ИДПП-4 (вилдаглиптина) в течение 6 месяцев приводит к снижению уровня экскреции нарушенных биомаркеров и стабилизации уровня СКФ в группе лечения, без статистически значимого изменения контроля гликемии, что свидетельствует о наличии дополнительного нефропротективного эффекта, не зависящего от сахароснижающего эффекта препарата.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

У больных СД 2 типа целесообразно использовать исследование панели биомаркеров, включающей определение соотношения NGAL/креатинин, нефрина и цистатина с в моче и цистатина с в плазме крови с целью ранней диагностики ХБП, для более активного наблюдения и мониторинга данных пациентов.

Применение ИДПП4 (вилдаглиптина) оказывает положительное действие на уровень экскреции ранних биомаркеров ХБП и приводит к стабилизации СКФ, что открывает дополнительные возможности превентивной нефропротекции на доклинической стадии ХБП.

ВНЕДРЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты работы внедрены в практику клинической работы отделения диабетической болезни почек и посттрансплантационной реабилитации ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

HbA1c - гликированный гемоглобин

MMP - матриксные металлопротеиназы

NGAL- нейтрофильный желатиназно-ассоциированный липокалин

SDF-1α – стромальный клеточный фактор-1

SRCC (Spearman rank correlation coefficient) - метод ранговой корреляции по Спирмену.

TGF-β1 - трансформирующий фактор роста-β1

TIM-1 - тканефой ингибитор матричной металлопротеиназы-1

TW – тест Вилкоксона

U-KIM-1 – молекула почечного повреждения – 1- маркер определенный в моче.

UMW - U-критерий Манна–Уитни.

u-NGAL- нейтрофильный желатиназно-ассоциированный липокалин - маркер, определенный в моче.

u-Цистатин С - Цистатин С -маркер, определенный в моче.

VEGF-A - фактор роста эндотелия сосудов.

АГ – артериальная гипертония

АД - артериальное давление

АУ - альбуминурия

БРА - СД

иАПФ - ингибиторы ангиотензин- превращающего фермента

ИБС- ишемическая болезнь сердца

иДПП4 - ингибиторы дипептидилпептидазы-4 типа

ИМТ- индекс массы тела

РАС (РААС)- ренин-ангиотензин-альдостероновая система

СД – сахарный диабет

СД1- сахарный диабет 1 типа

СД2 - сахарный диабет 2 типа

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

ХБП – хроническая болезнь почек

ХПН - хроническая почечная недостаточность

ОПП- острое почечное повреждение

БМК- базальная мембрана клубочка

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шестакова М.В. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек: возможности прогнозирования, ранней диагностики и нефропротекции в XXI веке // Терапевтический архив. 2016. №. 88, № 6. С. 84–88.
2. Дедов И.И., Шестакова М.В., Викулова О.К. Эпидемиология сахарного диабета в Российской Федерации: клинико-статистический отчет по данным федерального регистра диабета // Сахарный диабет. 2017. Т. 20, № 1. С. 13–41.
3. Шамхалова М.Ш., Трубицина Н.П., Шестакова М.В. Особенности сахароснижающей терапии у больных сахарным диабетом и хронической болезнью почек // Сахарный диабет. 2013. № 3. С. 97–102.
4. Anderson N.L., Anderson N.G. Proteome and proteomics: new technologies, new concepts, and new words. // Electrophoresis. 1998. Vol. 19, № 11. pp. 1853–1861.
5. Thongboonkerd V. Study of Diabetic Nephropathy in the Proteomic Era // Diabetes and the Kidney. 2011. Vol. 170. pp. 172–183.
6. Rossing K. et al. The urinary proteome in diabetes and diabetes-associated complications: New ways to assess disease progression and evaluate therapy // Proteomics - Clinical Applications. 2008. Vol. 2, № 7–8. pp. 997–1007.
7. Zurbig P. et al. Urinary Proteomics for Early Diagnosis in Diabetic Nephropathy // Diabetes. 2012. Vol. 61, № 12. pp. 3304–3313.
8. Currie G. Biomarkers in diabetic nephropathy: Present and future // World J. Diabetes. 2014. Vol. 5, № 6. pp. 763.
9. Лебедева Н.О., Викулова О.К. Маркеры Доклинической Диагностики Диабетической Нефропатии У Пациентов С Сахарным Диабетом 1 Типа. 2012.

№ 2. С. 38–45.
10. Гарганеева А.А., Кужелева Е.А., Борель К.Н. и др. Сахарный диабет 2 типа и острый инфаркт миокарда: прогностические варианты взаимодействия у пациентов разных возрастных групп // Сахарный диабет. 2018. №. 21, № 2. С. 105–112.
11. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю. Алгоритмы специализироанной медицинской помощи больным СД, клинические рекомендации, 2017. -183 с.
12. Железнякова А.В., Лебедева, Н.О., Викулова, О.К. и др. Риск хронического заболевания почек при сахарном диабете 2 типа, определяемый полиморфизмом в генах NOS3, APOB, KCNJ11, TCF7L2 как комплексный эффект комбинации генотипов риска // Сахарный диабет. 2014. № 3. С. 23–30.
13. Дедов И.И., Шестакова М.В. Диабетическая нефропатия // Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным СД. Москва: Универсум Паблишинг, 2017.-240 с.
14. Смирнов А.В., Добронравов В.А. К. И.Г. Проблема хронической болезни почек в современной медицине // Артериальная гипертензия, 2006. №. 12, № 3. С. 185–193.
15. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification // Am J Kidney Dis. 2002. Vol. 39. pp. 1–26.
16. Levey A.S. et al. The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. // Kidney Int. Nature Publishing Group, 2011. Vol. 80, № 1. pp. 17–28.
17. Coresh J. et al. Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey. // Am. J. Kidney Dis. 2003. Vol. 41, № 1. pp. 1–12.
18. Сигитова О.Н., Архипов Е.В. Хроническая болезнь почек: новое в классификации, диагностике, нефропротекции // Вестник современной клинической медицины. 2014, Т.7, № 1. С. 103–106.
19. Шестакова М.В. и др. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек: достижения, нерешенные проблемы и перспективы лечения // Сахарный диабет. 2011. № 1. С. 81–88.
20. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. Abstract // Kidney Int. Suppl. 2013. Vol. 3, № 1. p. 4.
21. Смирнов А.В., Шилов Е.М. Хроническая болезнь почек: основные принципы скрининга, диагностики, профилактики и подходы к лечению/ национальные рекомендации, 2012. - 51 с.
22. Narva A.S., Briggs M. The National Kidney Disease Education Program: Improving Understanding, Detection, and Management of CKD // Am. J. Kidney Dis. National Kidney Foundation, Inc., 2009. Vol. 53, № 3. pp. 115–120.
23. Tuttle K.R. et al. Diabetic Kidney Disease: A Report From an ADA Consensus Conference // Am. J. Kidney Dis. Elsevier, 2014. Vol. 64, № 4. pp. 510–533.

24. National Kidney Disease Education Program. Quick Reference on uACR and GFR. [Electronic resource] // http://www.nkdep.nih.gov/resources/uacr_gfr_quickreference.htm. 2008. (ссылка активна на 16.03.2019)
25. Cockcroft D.W., Gault M.H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. // Nephron. 1976. Vol. 16, № 1. pp. 31–41.
26. Levey A.S. et al. Annals of Internal Medicine, Philadelphia // JAMA J. Am. Med. Assoc. 1999. Vol. 198, № 11. pp. 223–227.
27. Моисеев В.С., Мухин Н.А., Кобалава Ж.Д. и др.. Сердечно-сосудистый риск и хроническая болезнь почек: стратегии кардио-нефропротекции/ Национальные рекомендации, 2013. - 55с.
28. Vučić Lovrenčic M. et al. Estimating glomerular filtration rate (GFR) in diabetes: The performance of MDRD and CKD-EPI equations in patients with various degrees of albuminuria // Clin. Biochem. 2012. Vol. 45, № 18. pp. 1694–1696.
29. Dharnidharka V.R., Kwon C., Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: A meta-analysis // Am. J. Kidney Dis. 2002. Vol. 40, № 2. pp. 221–226.
30. Inker L. a. et al. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. // N. Engl. J. Med. 2012. Vol. 367, № 1. pp. 20–29.
31. Schaeffner E.S. et al. Original Research Two Novel Equations to Estimate Kidney Function in Persons Aged 70 Years or Older // Ann. Intern. Med. 2012. Vol. 157, № 7. pp. 471–481.
32. Grubb A. et al. A cystatin C-based formula without anthropometric variables estimates glomerular filtration rate better than creatinine clearance using the Cockcroft-Gault formula // Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2005. Vol. 65, № 2. pp. 153–162.
33. Hojs R. et al. Serum cystatin C-based equation compared to serum creatinine-based equations for estimation of glomerular filtration rate in patients with chronic kidney disease. // Clin. Nephrol. 2008. Vol. 70, № 1. pp. 10–17.
34. Kervella D. et al. Cystatin C Versus Creatinine for GFR Estimation in CKD Due to Heart Failure // Am. J. Kidney Dis. National Kidney Foundation, Inc., 2017. Vol. 69, № 2. pp. 321–323.
35. Shlipak M.G. et al. Cystatin C and Prognosis for Cardiovascular and Kidney Outcomes in Elderly Persons without Chronic Kidney Disease // Ann Intern Med. 2006. Vol. 145, № 4. pp. 237–246.
36. Knight E.L. et al. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement // Kidney Int. 2004. Vol. 65, № 4. pp. 1416–1421.
37. Моисеев В.С. и др. Функциональное состояние почек и прогнозирование сердечно-сосудистого риска, 2008. -27 с.
38. Peralta C. a et al. Detection of chronic kidney disease with creatinine, cystatin C, and urine albumin-to-creatinine ratio and association with progression to end-stage renal disease and mortality. // JAMA. 2011. Vol. 305, № 15. pp. 1545–1552.

39. Granier C. et al. Gene and protein markers of diabetic nephropathy // Nephrol. Dial. Transplant. 2008. Vol. 23, № 3. pp. 792–799.
40. Muskiet M.H.A. et al. The gut-renal axis: do incretin-based agents confer renoprotection in diabetes? // Nat. Rev. Nephrol. Nature Publishing Group, 2014. Vol. 10, № 2. pp. 88–103.
41. Singh AK, Mo W, Dunea G A.J. Effect of glycated proteins on the matrix of glomerular epithelial cells // J. Am. Soc. Nephrol. 1998. Vol. 9, № 5. pp. 802–810.
42. Климонтов В.В., Мякина Н.Е. Хроническая болезнь почек при сахарном диабете, 2014. -44 с.
43. Шамхалова М.Ш., Курумова К.О., Шестакова М.В. Факторы тубулоинтерстициального поражения почек при сахарном диабете // Сахарный диабет. 2009. №. 4. С. 61–64.
44. Klein J. et al. The role of urinary peptidomics in kidney disease research. // Kidney Int. Elsevier Inc, 2016. Vol. 89, № 3. pp. 539–545.
45. Jim B. et al. Biomarkers of diabetic nephropathy, the present and the future. // Curr. Diabetes Rev. 2012. Vol. 8, № 5. pp. 317–328.
46. Kjeldsen L. et al. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase // J. Biol. Chem. 1993. Vol. 268, № 14. pp. 10425–10432.
47. Mishra J. et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: A novel early urinary biomarker for cisplatin nephrotoxicity // Am. J. Nephrol. 2004. Vol. 24, № 3. pp. 307–315.
48. Alter M.L. et al. Early urinary and plasma biomarkers for experimental diabetic nephropathy // Clin. Lab. 2012. Vol. 58, № 7–8. pp. 659–671.
49. Mishra J. et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. // Lancet (London, England). 2005. Vol. 365, № 9466. pp. 1231–1238.
50. Mishra J. et al. Kidney NGAL is a novel early marker of acute injury following transplantation // Pediatr. Nephrol. 2006. Vol. 21, № 6. pp. 856–863.
51. Woo K.-S. et al. Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Levels in Comparison with Glomerular Filtration Rate for Evaluation of Renal Function in Patients with Diabetic Chronic Kidney Disease // Diabetes Metab. J. 2012. Vol. 36, № 4. p. 307.
52. Kuwabara T. et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels reflect damage to glomeruli, proximal tubules, and distal nephrons. // Kidney Int. 2009. Vol. 75, № Figure 1. pp. 285–294.
53. de Carvalho J.A.M. et al. Urinary kidney injury molecule-1 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin as indicators of tubular damage in normoalbuminuric patients with type 2 diabetes // Clin. Biochem. The Canadian Society of Clinical Chemists, 2015.
54. Ichimura T. et al. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury // J. Biol. Chem. 1998. Vol. 273, № 7. pp. 4135–4142.

55. Han W.K. et al. Kidney Injury Molecule (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubular injury // Kidney Int. 2002. Vol. 62. pp. 237–244.
56. Tyczynski B., Feldkamp T. Kidney injury molecule-1 (KIM-1) // Der Nephrol. 2009. Vol. 4, № 6. pp. 532–533.
57. El-Ashmawy N.E. et al. Kidney injury molecule-1 (Kim-1): an early biomarker for nephropathy in type II diabetic patients // Int. J. Diabetes Dev. Ctries. 2015. Vol. 35, № S3. pp. 431–438.
58. Vaidya V.S. et al. Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. // Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2006. Vol. 290, № 2. pp. F517-29.
59. Vaidya V.S. et al. A rapid urine test for early detection of kidney injury. // Kidney Int. Nature Publishing Group, 2009. Vol. 76, № 1. pp. 108–114.
60. Slocum J.L., Heung M., Pennathur S. Marking renal injury: Can we move beyond serum creatinine? // Transl. Res. Mosby, Inc., 2012. Vol. 159, № 4. pp. 277–289.
61. Waanders F. et al. Effect of Renin-Angiotensin-Aldosterone System Inhibition, Dietary Sodium Restriction, and/or Diuretics on Urinary Kidney Injury Molecule 1 Excretion in Nondiabetic Proteinuric Kidney Disease: A Post Hoc Analysis of a Randomized Controlled Trial // Am. J. Kidney Dis. National Kidney Foundation, Inc., 2009. Vol. 53, № 1. pp. 16–25.
62. Szeto C.C. et al. Urinary expression of kidney injury markers in renal transplant recipients // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2010. Vol. 5, № 12. pp. 2329–2337.
63. Jungbauer C.G. et al. Kidney injury molecule-1 and N-acetyl-ß-d-glucosaminidase in chronic heart failure: Possible biomarkers of cardiorenal syndrome // European Journal of Heart Failure. 2011. Vol. 13, № 10. pp. 1104–1110.
64. Nauta F.L. et al. Glomerular and tubular damage markers are elevated in patients with diabetes // Diabetes Care. 2011. Vol. 34, № 4. pp. 975–981.
65. Waanders F. Kidney injurymolecule-1 in renal disease. // J. Pathol. 2010. Vol. 220, № September. pp. 114–125.
66. Van Rooijen J.J.M. et al. Glycosylation sites and site-specific glycosylation in human Tamm-Horsfall glycoprotein // Glycobiology. 1999. Vol. 9, № 1. pp. 21–30.
67. Rampoldi L. et al. The rediscovery of uromodulin (Tamm-Horsfall protein): from tubulointerstitial nephropathy to chronic kidney disease. // Kidney Int. Nature Publishing Group, 2011. Vol. 80, № 4. pp. 338–347.
68. Lhotta K. Uromodulin and chronic kidney disease. // Kidney Blood Press. Res. 2010. Vol. 33, № 5. pp. 393–398.
69. Батюшин М.М., Пасечник Д.Г. Протеинурия: вопросы дифференциальной диагностики /CONSILIUM MEDICUM, 2013. Т. 15 № 7, С. 48–56.
70. Bachmann S. et al. Renal effects of Tamm-Horsfall protein (uromodulin) deficiency in mice. // Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2005. Vol. 288, № 3. pp. F559–F567.
71. Weichhart T., Zlabinger G.J., Säemann M.D. The multiple functions of Tamm-Horsfall protein in human health and disease: A mystery clears up // Wien. Klin. Wochenschr. 2005. Vol. 117, № 9–10. pp. 316–322.

72. Ying W.Z., Sanders P.W. Dietary salt regulates expression of Tamm-Horsfall glycoprotein in rats // Kidney Int. 1998. Vol. 54, № 4. pp. 1150–1156.
73. Gudbjartsson D.F. et al. Association of variants at UMOD with chronic kidney disease and kidney stones-role of age and comorbid diseases // PLoS Genet. 2010. Vol. 6, № 7. pp. 1–9.
74. Köttgen A. et al. Multiple loci associated with indices of renal function and chronic kidney disease. // Nat. Genet. 2009. Vol. 41, № 6. pp. 712–717.
75. Horton J.K. et al. Activation of the inflammatory response of neutrophils by Tamm-Horsfall glycoprotein // Kidney Int. 1990. Vol. 37, № 2. pp. 717–726.
76. Kreft B. et al. Polarized Expression of Tamm-Horsfall Protein by Renal Tubular Epithelial Cells Activates Human Granulocytes Polarized Expression of Tamm-Horsfall Protein by Renal Tubular Epithelial Cells Activates Human Granulocytes // Infect. Immun. 2002. Vol. 70, № 5. pp. 2650–2656.
77. Wimmer T. et al. Effects of Tamm-Horsfall protein on polymorphonuclear leukocyte function // Nephrol. Dial. Transplant. 2004. Vol. 19, № 9. pp. 2192–2197.
78. Pruijm M. et al. Associations of urinary uromodulin with clinical characteristics and markers of tubular function in the general population // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2016. Vol. 11, № 1. pp. 70–80.
79. Troyanov S. et al. Clinical, genetic, and urinary factors associated with uromodulin excretion // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2016. Vol. 11, № 1. pp. 62–69.
80. Bleyer A.J., Kmoch S. Tamm Horsfall glycoprotein and uromodulin: It is all about the tubules! // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2016. Vol. 11, № 1. pp. 6–8.
81. Möllsten A., Torffvit O. Tamm-Horsfall protein gene is associated with distal tubular dysfunction in patients with type 1 diabetes. // Scand. J. Urol. Nephrol. 2010. Vol. 44, № 6. pp. 438–444.
82. Biology C., Denmark K.A., Denmark K.A. Diabetologia. 1995. pp. 525–535.
83. Thorup C. et al. Increased tubuloglomerular feedback reactivity is associated with increased NO production in the streptozotocin-diabetic rat // J. Diabetes Complications. 2000. Vol. 14, № 1. pp. 46–52.
84. Cho H., Cho H., Kim H. Osteopontin : A Multifunctional Protein at the Crossroads of Infl ammation , Atherosclerosis , and Vascular Calcifi cation. 2009.
85. Hijiya N. et al. Cloning and characterization of the human osteopontin promoter. 1994. Vol. 262. pp. 255–262.
86. Butler W.T. The nature and significance of osteopontin. // Connect. Tissue Res. 1989.
87. Franzén A., Heinegård D. Isolation and characterization of two sialoproteins present only in bone calcified matrix. // Biochem. J. 1985. Vol. 232, № 3. pp. 715–724.
88. Denhardt D.T. et al. Osteopontin as a means to cope with environmental insults: Regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival // J. Clin. Invest. 2001. Vol. 107, № 9. pp. 1055–1061.
89. Березин А.Е., Панасенко Т.А., Корецкая Е.Ю. Остеопонтин как новый биологический маркер сердечно-сосудистого ремоделирования, Український кардіологічний журнал, 2010, №4 С. 98–102.

90. Jalvy S. et al. Autocrine expression of osteopontin contributes to PDGF-mediated arterial smooth muscle cell migration // Cardiovasc. Res. 2007. Vol. 75, № 4. pp. 738–747.
91. Ashkar S. et al. Eta-1 (Osteopontin): An Early Component of Type-1 (Cell-Mediated) Immunity // Science (80-.). 2000. Vol. 287, № 5454. pp. 860–864.
92. Nasu K. et al. Expression of wild-type and mutated rabbit osteopontin in Escherichia coli , and their effects on adhesion and migration of P388D1 cells. 1995. Vol. 265. pp. 257–265.
93. Schmidt-Petersen K. et al. Osteopontin gene variation and cardio/cerebrovascular disease phenotypes // Atherosclerosis. 2009. Vol. 206, № 1. pp. 209–215.
94. Bellovici M. et al. Smoking is associated with increased levels of osteopontin in type 2 diabetic patients: preliminary results // Diabetes Metab. 2006. Vol. 32, № 5 Pt 1. pp. 485–486.
95. Matsui Y. et al. Osteopontin deficiency attenuates atherosclerosis in female apolipoprotein E-deficient mice // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2003. Vol. 23, № 6. pp. 1029–1034.
96. Takemoto M. et al. Enhanced expression of osteopontin in human diabetic artery and analysis of its functional role in accelerated atherogenesis. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2000. Vol. 20. pp. 624–628.
97. Kawamura H. et al. High Glucose-Induced Upregulation of Osteopontin Is Mediated via Rho/Rho Kinase Pathway in Cultured Rat Aortic Smooth Muscle Cells // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2004. Vol. 24, № 2. pp. 276–281.
98. Kahles F., Findeisen H.M., Bruemmer D. Osteopontin: A novel regulator at the cross roads of inflammation, obesity and diabetes // Mol. Metab. Elsevier GmbH, 2014. Vol. 3, № 4. pp. 384–393.
99. Kelly D.J. et al. Progression of tubulointerstitial injury by osteopontin-induced macrophage recruitment in advanced diabetic nephropathy of transgenic (mRen-2)27 rats. // Nephrol. Dial. Transplant. 2002. Vol. 17, № 6. pp. 985–991.
100. Susztak K. et al. Molecular Profiling of Diabetic Mouse Kidney Reveals Novel Genes Linked to Glomerular Disease // Diabetes. 2004. Vol. 53, № 3. pp. 784–794.
101. Yan X. et al. Plasma concentrations of osteopontin, but not thrombin-cleaved osteopontin, are associated with the presence and severity of nephropathy and coronary artery disease in patients with type 2 diabetes mellitus // Cardiovasc Diabetol. 2010. Vol. 9. p. 70.
102. Van der Leeuw J. et al. Novel Biomarkers to Improve the Prediction of Cardiovascular Event Risk in Type 2 Diabetes Mellitus // J. Am. Heart Assoc. 2016. Vol. 5, № 6. pp. e003048.
103. Li C. et al. Long-term treatment with ramipril attenuates renal osteopontin expression in diabetic rats // Kidney Int. 2003. Vol. 63, № 2. pp. 454–463.
104. Бондарь И.А., Климонтов В.В., Парфентьева Е.М. Мочевая экскреция коллагена IV типа – ранний маркер фиброзирования почек при Сахарном Диабете 1 // Сахарный диабет. 2011. № 4. С. 29–31.

105. Kotajima N. et al. Type IV collagen as an early marker for diabetic nephropathy in non-insulin-dependent diabetes mellitus. // J. Diabetes Complications. 2000. Vol. 14, № 1. pp. 13–17.
106. Kotajima N. et al. The significance of determination of urinary type IV collagen concentrations from a random urine collection in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus // Rinsho Byori. 1998. Vol. 46, № 3. pp. 277–282.
107. Sthaneshwar P., Chan S.P. Urinary type IV collagen levels in diabetes mellitus // Malays. J. Pathol. 2010. Vol. 32, № 1. pp. 43–47.
108. Morita M. et al. Association of urinary type IV collagen with GFR decline in young patients with type 1 diabetes. // Am. J. Kidney Dis. Elsevier Inc., 2011. Vol. 58, № 6. pp. 915–920.
109. Okonogi H. et al. Urinary type IV collagen excretion reflects renal morphological alterations and type IV collagen expression in patients with type 2 diabetes mellitus. // Clin. Nephrol. 2001. Vol. 55, № 5. pp. 357–364.
110. Cawood T.J. et al. Urinary collagen IV and πGST: Potential biomarkers for detecting localized kidney injury in diabetes - A pilot study // Am. J. Nephrol. 2010. Vol. 32, № 3. pp. 219–225.
111. Tashiro K. et al. Levels of urinary matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and renal injuries in patients with type 2 diabetic nephropathy // J. Clin. Lab. Anal. 2004. Vol. 18, № 3. pp. 206–210.
112. Watanabe H. et al. Urinary excretion of type IV collagen as a specific indicator of the progression of diabetic nephropathy. // Nephron. 2000. Vol. 86, № 1. pp.27-35
113. Tomino Y. et al. Asian multicenter trials on urinary type IV collagen in patients with diabetic nephropathy // J. Clin. Lab. Anal. 2001. Vol. 15, № 4. pp. 188–192.
114. Inomat S. et al. [Revised criteria for the early diagnosis of diabetic nephropathy]. // Nihon Jinzo Gakkai Shi. 2005. Vol. 47, № 7. pp. 767–769.
115. https://biochemmack.ru/catalog/element/13962/16284/ [Electronic resource] (ссылка активна на 16.03.2019)
116. Visse R., Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: Structure, function, and biochemistry // Circulation Research. 2003. Vol. 92, № 8. pp. 827–839.
117. Van Lint P., Libert C. Chemokine and cytokine processing by matrix metalloproteinases and its effect on leukocyte migration and inflammation. // J. Leukoc. Biol. 2007. Vol. 82, № 6. pp. 1375–1381.
118. Galis Z.S., Khatri J.J. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. // Circ Res. 2002. Vol. 90, № 3. pp. 251–262.
119. Kadoglou N.pp. et al. Matrix metalloproteinases and diabetic vascular complications. // Angiology. 2005. Vol. 56, № 2. pp. 173–189.
120. Stratmann B., Farr M., Tschesche H. MMP-TIMP interaction depends on residue 2 in TIMP-4 // FEBS Lett. 2001. Vol. 507, № 3. pp. 285–287.
121. Hörstrup J.H. et al. Elevation of serum and urine levels of TIMP-1 and tenascin in

patients with renal disease. // Nephrol. Dial. Transplant. 2002. Vol. 17. pp. 1005–1013.
122. Jacqueminet S. et al. Elevated circulating levels of matrix metalloproteinase-9 in type 1 diabetic patients with and without retinopathy // Clin Chim Acta. 2006. Vol. 367, № 1–2. pp. 103–107.
123. Peeters S. a et al. Plasma levels of matrix metalloproteinase-2, -3, -10, and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are associated with vascular complications in patients with type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. // Cardiovasc. Diabetol. 2015. Vol. 14. p. 31.
124. Ishimura E. et al. Serum type III, IV collagens and TIMP in patients with type II diabetes mellitus. // Life Sci. 1996. Vol. 58, № 16. pp. 1331–1337.
125. Щукина А.А., Бобкова И.Н., Шестакова М.В. Экскреция с мочой маркеров повреждения подоцитов у больных сахарным диабетом // Терапевтический архив. 2015. № 10. С. 62–66.
126. Ziyadeh F.N., Wolf G. Pathogenesis of the podocytopathy and proteinuria in diabetic glomerulopathy. // Curr. Diabetes Rev. 2008. Vol. 4, № 1. pp. 39–45.
127. Diez-Sampedro A., Lenz O., Fornoni A. Podocytopathy in diabetes: A metabolic and endocrine disorder // Am. J. Kidney Dis. 2011. Vol. 58, № 4. pp. 637–646.
128. Lewko B., Stepinski J. Hyperglycemia and mechanical stress: Targeting the renal podocyte // Journal of Cellular Physiology. 2009. Vol. 221, № 2. pp. 288–295.
129. Steffes M.W. et al. Glomerular cell number in normal subjects and in type 1 diabetic patients // Kidney Int. 2001. Vol. 59, № 6. pp. 2104–2113.
130. Dalla Vestra M. et al. Is podocyte injury relevant in diabetic nephropathy? Studies in patients with type 2 diabetes // Diabetes. 2003. Vol. 52, № 4. pp. 1031–1035.
131. Nakamura T. et al. Urinary excretion of podocytes in patients with diabetic nephropathy. // Nephrol. Dial. Transplant. 2000. Vol. 15, № 9. pp. 1379–1383.
132. Vogelmann S.U. et al. Urinary excretion of viable podocytes in health and renal disease. // Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2003. Vol. 285, № 1. pp. F40-8.
133. Бобкова И.Н., Шестакова М.В., Щукина А.А. Повреждение подоцитов при сахарном диабете // Сахарный диабет. 2014. № 3. С. 39–50.
134. Shankland S.J. The podocyte’s response to injury: Role in proteinuria and glomerulosclerosis // Kidney Int. 2006. Vol. 69, № 12. pp. 2131–2147.
135. Holzman L.B. et al. Nephrin localizes to the slit pore of the glomerular epithelial cell: Rapid communication // Kidney Int. 1999. Vol. 56, № 4.
136. Kestilä M. et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein--nephrin--is mutated in congenital nephrotic syndrome // Mol. Cell. 1998. Vol. 1, № 4. pp. 575–582.
137. Lenkkeri U. et al. Structure of the gene for congenital nephrotic syndrome of the finnish type (NPHS1) and characterization of mutations. // Am. J. Hum. Genet. 1999. Vol. 64, № 1. pp. 51–61.
138. Schwarz K. et al. Podocin, a raft-associated component of the glomerular slit diaphragm, interacts with CD2AP and nephrin // J. Clin. Invest. 2001. Vol. 108, № 11. pp. 1621–1629.

139. Beltcheva O. et al. Mutation spectrum in the nephrin gene (NPHS1) in congenital nephrotic syndrome // Human Mutation. 2001. Vol. 17, № 5. pp. 368–373.
140. Levidiotis V. et al. Increased expression of heparanase in puromycin aminonucleoside nephrosis // Kidney Int. 2001. Vol. 60, № 4. pp. 1287–1296.
141. Doublier S. et al. Nephrin redistribution on podocytes is a potential mechanism for proteinuria in patients with primary acquired nephrotic syndrome. // Am. J. Pathol. 2001. Vol. 158, № 5. pp. 1723–1731.
142. Kim B.K. et al. Differential expression of nephrin in acquired human proteinuric diseases // Am. J. Kidney Dis. 2002. Vol. 40, № 5. pp. 964–973.
143. Wang S.X. et al. Patterns of nephrin and a new proteinuria-associated protein expression in human renal diseases // Kidney Int. 2002. Vol. 61, № 1. pp. 141–147.
144. Yuan H. et al. Nephrin dissociates from actin, and its expression is reduced in early experimental membranous nephropathy. // J. Am. Soc. Nephrol. 2002. Vol. 13, № 4. pp. 946–956.
145. Петросян Э.К. Подоцит : строение и роль в развитии нефротического синдрома // Нефрология и диализ. 2006. Т. 8, № 2. С. 112–121.
146. Tryggvason K. Unraveling the mechanisms of glomerular ultrafiltration: Nephrin, a key component of the slit diaphragm // J. Am. Soc. Nephrol. 1999. Vol. 10, № 11.
147. Tryggvason K., Ruotsalainen V., Wartiovaara J. Discovery of the congenital nephrotic syndrome gene discloses the structure of the mysterious molecular sieve of the kidney // Int. J. Dev. Biol. 1999. Vol. 43, № 5.
148. Donoviel D.B. et al. Proteinuria and Perinatal Lethality in Mice Lacking NEPH1, a Novel Protein with Homology to NEPHRIN // Mol. Cell. Biol. 2001. Vol. 21, № 14. pp. 4829–4836.
149. Benigni A. et al. Selective impairment of gene expression and assembly of nephrin in human diabetic nephropathy // Kidney Int. 2004. Vol. 65, № 6. pp. 2193–2200.
150. Pätäri A. et al. Nephrinuria in Diabetic Nephropathy of Type 1 Diabetes // Diabetes. 2003. Vol. 52, № 12. pp. 2969–2974.
151. Ng D.P. et al. Nephrinuria associates with multiple renal traits in type 2 diabetes // Nephrol. Dial. Transplant. 2011. Vol. 26, № 8. pp. 2508–2514.
152. Jim B. et al. Dysregulated Nephrin in Diabetic Nephropathy of Type 2 Diabetes: A Cross Sectional Study // PLoS One / ed. Boulton M.E. 2012. Vol. 7, № 5. pp. 36-41.
153. Koop K. et al. Expression of podocyte-associated molecules in acquired human kidney diseases. // J. Am. Soc. Nephrol. 2003. Vol. 14, № 8. pp. 2063–2071.
154. Cao Z. et al. Angiotensin type 2 receptor antagonism confers renal protection in a rat model of progressive renal injury. // J. Am. Soc. Nephrol. 2002. Vol. 13, № 7. pp. 1773–1787.
155. Langham R. et al. Proteinuria and the expression of the podocyte slit diaphragm protein, nephrin, in diabetic nephropathy: Effects of angiotensin converting enzyme inhibition // Diabetologia. 2002. Vol. 45, № 11. pp. 1572–1576.
156. Bonnet F. et al. Irbesartan normalises the deficiency in glomerular nephrin expression in a model of diabetes and hypertension // Diabetologia. 2001. Vol. 44, № 7. pp. 874–

877.
157. Kelly D.J. et al. Expression of the slit-diaphragm protein, nephrin, in experimental diabetic nephropathy: differing effects of anti-proteinuric therapies. // Nephrol. Dial. Transplant. 2002. Vol. 17, № 7. pp. 1327–1332.
158. Shono A. et al. Podocin participates in the assembly of tight junctions between foot processes in nephrotic podocytes. // J. Am. Soc. Nephrol. 2007. Vol. 18, № 9. pp. 2525–2533.
159. Boute N. et al. Characterization of the NPHS2 gene, encoding for the glomerular protein podocin, involved in a familial form of steroid-resistant nephrotic syndrome | Caractérisation du gène NPHS2, codant pour la protéine glomérulaire podocine, impliqué dans une forme fa // Nephrologie. 2002. Vol. 23, № 1.
160. Parton R.G. Caveolae--from ultrastructure to molecular mechanisms. // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2003. Vol. 4, № 2. pp. 162–167.
161. Roselli S.V. et al. Podocin Localizes in the Kidney to the Slit Diaphragm Area // Am. J. Pathol. 2002. Vol. 160. pp. 131–139.
162. Huber T.B. et al. Interaction with Podocin Facilitates Nephrin Signaling // J. Biol. Chem. 2001. Vol. 276, № 45. pp. 41543–41546.
163. Boute N. et al. NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. // Nat. Genet. 2000. Vol. 24, № 4. pp. 349–354.
164. Grubb A., Löfberg H. Human gamma-trace, a basic microprotein: amino acid sequence and presence in the adenohypophysis. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1982. Vol. 79, № 9. pp. 3024–3027.
165. Вельков В. Новые возможности для ранней диагностики субклинических, хронических и острых ренальных повреждений, 2014. -224 с.
166. Brown W.M., Dziegielewska K.M. Friends and relations of the cystatin superfamily--new members and their evolution. // Protein Sci. 1997. Vol. 6, № 1. pp. 5–12.
167. Rawlings N.D., Barrett A.J. Evolution of Proteins of the Cystatin Superfamily. 1990. pp. 60–71.
168. Anders Hall, Katarina Håkansson, Robert W. Mason A.G., Abrahamson M. Structural basis for the biological specificity of cystatin C // J. Biol. Chem. 1995. Vol. 270, № 10. pp. 5115–5121.
169. Abrahamson M. et al. Structure and expression of the human cystatin C gene. // Biochem. J. 1990. Vol. 268, № 2. pp. 287–294.
170. Вельков В.В. Цистатин С — новый ренальный биомаркер для неонатологии и педиатрии // Медицинский алфавит. 2015. № 2. С. 18–23.
171. Shlipak M.G., Mattes M.D., Peralta C.A. Narrative Review Update on Cystatin C : Incorporation Into Clinical Practice // YAJKD. Elsevier Inc., 2013. Vol. 62, № 3. pp. 595–603.
172. Finney H., Newman D.J., Price C.P. Adult reference ranges for serum cystatin C, creatinine and predicted creatinine clearance. // Ann. Clin. Biochem. 2000. Vol. 37 (Pt 1). pp. 49–59.

173. Vinge E. et al. Relationships among serum cystatin C, serum creatinine, lean tissue mass and glomerular filtration rate in healthy adults. // Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1999. Vol. 59, № 8. pp. 587–592.
174. Ichihara K., Saito K., Itoh Y. Sources of variation and reference intervals for serum cystatin C in a healthy Japanese adult population. // Clin. Chem. Lab. Med. 2007. Vol. 45, № 9. pp. 1232–1236.
175. Muntner P. et al. Overweight, Obesity, and Elevated Serum Cystatin C Levels in Adults in the United States // Am. J. Med. 2008. Vol. 121, № 4. pp. 341–348.
176. Simonsen O., Grubb A., Thysell H. The blood serum concentration of cystatin C (gamma-trace) as a measure of the glomerular filtration rate // Scand J Clin Lab Invest. 1985. Vol. 45, № 2. pp. 97–101.
177. Grubb A. et al. Simple cystatin C-based prediction equations for glomerular filtration rate compared with the modification of diet in renal disease prediction equation for adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt prediction equations for children // Clin. Chem. 2005. Vol. 51, № 8. pp. 1420–1431.
178. Perkins B.A. Detection of Renal Function Decline in Patients with Diabetes and Normal or Elevated GFR by Serial Measurements of Serum Cystatin C Concentration: Results of a 4-Year Follow-Up Study // J. Am. Soc. Nephrol. 2005. Vol. 16, № 5. pp. 1404–1412.
179. Ozer B.A. et al. Can cystatin C be a better marker for the early detection of renal damage in primary hypertensive patients? // Ren. Fail. 2005. Vol. 27, № 3. pp. 247–253.
180. Abdelmalek J.A., Rifkin D.E. Cystatin C, creatinine, and albuminuria: Bringing risk into 3 dimensions // Am. J. Kidney Dis. Elsevier Inc., 2012. Vol. 60, № 2. pp. 176–178.
181. Jerums G. et al. New and old markers of progression of diabetic nephropathy // Diabetes Res. Clin. Pract. 2008. Vol. 82, № SUPPL. 1. pp. 30-7.
182. Shlipak M.G. Cystatin C: research priorities targeted to clinical decision making. // Am. J. Kidney Dis. 2008. Vol. 51, № 3. pp. 358–361.
183. Inker L.A., Okparavero A. Cystatin C as a marker of glomerular filtration rate // Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. 2011. Vol. 20, № 6. pp. 631–639.
184. Odutayo A., Cherney D. Cystatin C and acute changes in glomerular filtration rate. // Clin. Nephrol. 2012. Vol. 78, № 1. pp. 64–75.
185. Mussap M. et al. Cystatin C is a more sensitive marker than creatinine for the estimation of GFR in type 2 diabetic patients // Kidney Int. 2002. Vol. 61, № 4. pp. 1453–1461.
186. Perlemoine C. et al. Interest of cystatin C in screening diabetic patients for early impairment of renal function. // Metabolism. 2003. Vol. 52, № 10. pp. 1258–1264.
187. MacIsaac R.J. et al. The accuracy of cystatin C and commonly used creatinine-based methods for detecting moderate and mild chronic kidney disease in diabetes // Diabet. Med. 2007. Vol. 24, № 4. pp. 443–448.
188. Willems D. et al. Cystatin C for early detection of renal impairment in diabetes // Clin.

Biochem. 2009. Vol. 42, № 1–2. pp. 108–110.
189. Chudleigh R.A. et al. Use of cystatin C-based estimations of glomerular filtration rate in patients with type 2 diabetes // Diabetologia. 2009. Vol. 52, № 7. pp. 1274–1278.
190. Nakai K. et al. [Evaluation of urinary cystatin C as a marker of renal dysfunction]. // Nihon Jinzo Gakkai Shi. 2006. Vol. 48, № 5. pp. 407–415.
191. Herget-Rosenthal S. et al. Prognostic Value of Tubular Proteinuria and Enzymuria in Nonoliguric Acute Tubular Necrosis // Clin. Chem. 2004. Vol. 50, № 3. pp. 552–558.
192. Koyner J.L. et al. Urinary cystatin C as an early biomarker of acute kidney injury following adult cardiothoracic surgery // Kidney Int. 2008. Vol. 74, № 8. pp. 1059–1069.
193. Conti M. et al. Absence of circadian variations in urine cystatin C allows its use on urinary samples. // Clin. Chem. 2005. Vol. 51, № 1. pp. 272–273.
194. Herget-Rosenthal S. et al. Measurement of urinary cystatin C by particle-enhanced nephelometric immunoassay: precision, interferences, stability and reference range. // Ann. Clin. Biochem. 2004. Vol. 41. pp. 111–118.
195. Uchida K., Gotoh A. Measurement of cystatin-C and creatinine in urine // Clin. Chim. Acta. 2002. Vol. 323, № 1–2. pp. 121–128.
196. Conti M. et al. Urinary cystatin C as a specific marker of tubular dysfunction // Clin. Chem. Lab. Med. 2006. Vol. 44, № 3. pp. 288–291.
197. Tufro A., Veron D. VEGF and Podocytes in Diabetic Nephropathy // Semin. Nephrol. Elsevier Inc., 2012. Vol. 32, № 4. pp. 385–393.
198. Neufeld G. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors // FASEB J. 1999. Vol. 13, № 1. pp. 9–22.
199. Дедов И.И., Шестакова М.В. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек. «Медицинское информационное агентство», 2009. - 482 с.
200. Senger D.R. Vascular endothelial growth factor: much more than an angiogenesis factor. // Mol. Biol. Cell. 2010. Vol. 21, № 3. pp. 377–379.
201. Wirostko B., Wong T.Y., Simó R. Vascular endothelial growth factor and diabetic complications. // Prog. Retin. Eye Res. 2008. Vol. 27, № 6. pp. 608–621.
202. Aiello L.P., Wong J.-S. Role of vascular endothelial growth factor in diabetic vascular complications // Kidney Int. 2000. Vol. 58, № Suppl. 77. pp. 113–119.
203. Buraczynska M. et al. Association of the VEGF gene polymorphism with diabetic retinopathy in type 2 diabetes patients // Nephrol Dial Transpl. 2007. Vol. 22, № 3. pp. 827–832.
204. Simon M. et al. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in human renal ontogenesis and in adult kidney. // Am. J. Physiol. 1995. Vol. 268, № 2 Pt 2. pp. 240-250.
205. Baelde H.-J. et al. Reduction of VEGF-A and CTGF expression in diabetic nephropathy is associated with podocyte loss // Kidney Int. 2007. Vol. 71, № 7. pp. 637–645.
206. Шишко О.Н., Мохорт Т.В., Константинова, Е. Е. Роль эндотелиального фактора роста сосудов в патогенезе диабетической нефропатии // Медицинский журнал.

2013. № 43. С. 132–135.
207. Vaisman N., Gospodarowicz D., Neufeld G. Characterization of the receptors for vascular endothelial growth factor // J Biol Chem. 1990. Vol. 265, № 32. pp. 461–466.
208. Diamond-Stanic M.K., You Y.H., Sharma K. Sugar, Sex, and TGF-β in Diabetic Nephropathy // Semin. Nephrol. Elsevier Inc., 2012. Vol. 32, № 3. pp. 261–268.
209. Campbell K.N., Raij L., Mundel P. Role of angiotensin II in the development of nephropathy and podocytopathy of diabetes. // Curr. Diabetes Rev. 2011. Vol. 7, № 1. pp. 3–7.
210. Rask-Madsen C., King G.L. Vascular complications of diabetes: Mechanisms of injury and protective factors // Cell Metabolism. 2013. Vol. 17, № 1. pp. 20–33.
211. Carranza K. et al. Cellular and molecular aspects of diabetic nephropathy; the role of VEGF-A // Nefrol. (English Ed. Sociedad Española de Nefrología, 2015. Vol. 35, № 2. pp. 131–138.
212. Hohenstein B. et al. Local VEGF activity but not VEGF expression is tightly regulated during diabetic nephropathy in man. // Kidney Int. 2006. Vol. 69, № 9. pp. 1654–1661.
213. Veron D. et al. Podocyte vascular endothelial growth factor (Vegf164) overexpression causes severe nodular glomerulosclerosis in a mouse model of type 1 diabetes // Diabetologia. 2011. Vol. 54, № 5. pp. 1227–1241.
214. Wolf G., Ziyadeh F.N. Molecular mechanisms of diabetic renal hypertrophy // Kidney International. 1999. Vol. 56, № 2. pp. 393–405.
215. Шестакова М.В. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек: современная диагностика и лечение // Вестник Российской Академии Медицинскикх Наук. 2012. № 1. С. 45–49.
216. Górriz J.L. et al. Nephroprotection by Hypoglycemic Agents: Do We Have Supporting Data? // J. Clin. Med. 2015. Vol. 4, № 10. pp. 1866–1889.
217. Шестакова М.В. Роль аналога человеческого глюкагоноподобного пептида-1 в терапии сахарного диабета 2 типа // Сахарный Диабет. 2010. №. 3. С. 106–109.
218. Moore B. On the treatment of diabetes mellitus by acid extract of duodenal mucous membrane. // Biochem J. 1906. Vol. 1. pp. 28–38.
219. Holst J.J. The physiology and pharmacology of incretins in type 2 diabetes mellitus // Diabetes, Obes. Metab. 2008. Vol. 10, № SUPPL. 3. pp. 14–21.
220. Nauck M.A. et al. Incretin-based therapies: viewpoints on the way to consensus. // Diabetes Care. 2009. Vol. 32 Suppl 2, № suppl_2. pp. S223-31.
221. Drucker D. Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibition and the Treatment of Type 2 Diabetes // Diabetes Care. 2007. Vol. 30, № 6. pp. 1335–1343.
222. Петунина Н.А., Терехова А.Л. Алоглиптин - новый представитель класса ингибиторов ДПП-4 // Ожирение и метаболизм. 2014. № 4. С. 25.
223. Дедов И.И. Сахарный диабет-опаснейший вызов мировому сообществу// Вестник РАМН. 2012. №. 1. С. 7–13.
224. Шестакова М.В. Возможности инкретиновой терапии у больных сахарным диабетом 2 типа и хронической болезнью почек // Сахарный диабет. 2012. № 3. С. 59–66.

225. McGill J.B. et al. Long-term efficacy and safety of linagliptin in patients with type 2 diabetes and severe renal impairment: a 1-year, randomized, double-blind, placebo-controlled study. // Diabetes Care. 2013. Vol. 36, № 2. pp. 237–244.
226. Kothny W., Shao Q., Lukashevich V. One-year safety, tolerability and efficacy of vildagliptin in patients with type 2 diabetes and moderate or severe renal impairment // Diabetes, Obes. Metab. 2012. pp. 1–8.
227. Garber A.J. Glucagon-like peptide-1-based therapies: new developments and emerging data // Diabetes, Obes. Metab. 2008. Vol. 10, № 3. pp. 22–35.
228. Nauck M. et al. Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. // Diabetologia. 1986. Vol. 29, № 1. pp. 46–52.
229. Шестакова М. Инновации в диагностике и лечении // Врач. 2012. № 8. С. 2–6.
230. Шестакова М.В., Халимов Ю.Ш. Гипогликемия у больных сахарным диабетом 2 типа: безопасное решение опасной проблемы // Терапевтический архив. 2013. Т. 85, № 12. С. 144–150.
231. Аметов А. Клиническое использование ингибитора ДПП–4 – вилдаглиптина при сахарном диабете 2 типа // РМЖ. 2010. № 14. С. 887.
232. Vavrinec P. et al. Vildagliptin Restores Renal Myogenic Function and Attenuates Renal Sclerosis Independently of Effects on Blood Glucose or Proteinuria in Zucker Diabetic Fatty Rat // Curr. Vasc. Pharmacol. 2014. Vol. 12, № 6. pp. 836–844.
233. Байрашева В.К., Бабенко А.Ю., Байрамов А.А. Перспективы нефропротекции при сахарном диабете 2 типа с использованием ингибитора ДПП-4 вилдаглиптина // Медицинский совет. 2017. № 3. С. 8–16.
234. Liu W.J. et al. Dipeptidyl Peptidase IV Inhibitor Attenuates Kidney Injury in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2012. Vol. 340, № 2. pp. 248–255.
235. Korbut A.I., Klimontov V.V. Incretin-based therapy: renal effects // Diabetes Mellit. 2016. Vol. 19, № 1. p. 53.
236. Glorie L.L.F. et al. DPP4 inhibition improves functional outcome after renal ischemia-reperfusion injury. // Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2012. Vol. 303, № 5. pp. 681-688.
237. Sufiun A. et al. Effect of dipeptidyl peptidase-4 inhibition on circadian blood pressure during the development of salt-dependent hypertension in rats // Hypertens. Res. 2015. Vol. 38, № 4. pp. 237–243.
238. Ateyya H. Amelioration of cyclosporine induced nephrotoxicity by dipeptidyl peptidase inhibitor vildagliptin // Int. Immunopharmacol. 2015. Vol. 28, № 1. pp. 571–577.
239. Lukashevich V. et al. Safety and efficacy of vildagliptin versus placebo in patients with type 2 diabetes and moderate or severe renal impairment: a prospective 24-week randomized placebo-controlled trial // Diabetes, Obes. Metab. 2011. Vol. 13, № 10. pp. 947–954.
240. Kothny W. et al. One-year safety, tolerability and efficacy of vildagliptin in patients with type 2 diabetes and moderate or severe renal impairment // Diabetes, Obes. Metab. 2012. Vol. 14, № 11. pp. 1–8.

241. Zhang H. et al. Exenatide reduces urinary transforming growth factor-β1and type IV collagen excretion in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria // Kidney Blood Press. Res. 2013. Vol. 35, № 6. pp. 483–488.
242. Gutzwiller J.-P. et al. Glucagon-like peptide 1 induces natriuresis in healthy subjects and in insulin-resistant obese men. // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2004. Vol. 89, № 6. pp. 3055–3061.
243. Vilsbøll T. et al. Effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on weight loss: systematic review and meta-analyses of randomised controlled trials. // BMJ. 2012. Vol. 344, № 7841. p. 771.
244. Hocher B., Reichetzeder C., Alter M.L. Renal and cardiac effects of DPP-4 inhibitors - from preclinical development to clinical research // Kidney and Blood Pressure Research. 2012. Vol. 36, № 1. pp. 65–84.
245. Шестакова М.В., Сухарева О.Ю.,Чернова Т.О. Комбинация ингибитора дипептидилпептидазы-4 и метформина в лечении больных сахарным диабетом 2-го типа: эффективный контроль гликемии, массы и количественного состава тела // Терапевтический архив. 2013. Vol. 85, № 8. С. 49–55.
246. Chen X. Biochemical Properties of Recombinant Prolyl Dipeptidases DPP-IV and DPP8 // Dipeptidyl Aminopeptidases. Springer US, 2006. Vol. 575. pp. 27–32.
247. Timo Rieg, Maria Gerasimova, Fiona Murray, Takahiro Masuda, Tong Tang, Michael Rose, Daniel J. Drucker and V.V. Natriuretic Effect by Exendin-4, but not the DPP-1 Inhibitor alogliptin, is mediated via the GLP-1 receptor and preserved in obese type 2 diabetic mice // Am. J. Ren. Physiol. 2012. Vol. 303. pp. 963–971.
248. Kiemer A.K., Fürst R., Vollmar A.M. Vasoprotective actions of the atrial natriuretic peptide. // Curr. Med. Chem. Cardiovasc. Hematol. Agents. 2005. Vol. 3, № 1. pp. 11–21.
249. DeFelice A.F., Brousseau A. Natriuretic and vasodilating activities of intrarenally administered atriopeptin II, substance P and bradykinin in the dog. // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1988. Vol. 246, № 1. pp. 183–188.
250. Anderson J. V et al. Atrial natriuretic peptide inhibits the aldosterone response to angiotensin II in man. // Clin. Sci. (Lond). 1986. Vol. 70, № 5. pp. 507–512.
251. Imaizumi T., Takeshita A. Influence of ANP on sympathetic nerve activity and chronotropic regulation of the heart. // J. Cardiovasc. Electrophysiol. 1993. Vol. 4, № 6. pp. 719–729.
252. Minson R., McRitchie R., Chalmers J. Effects of neuropeptide Y on the renal, mesenteric and hindlimb vascular beds of the conscious rabbit // J. Auton. Nerv. Syst. 1989. Vol. 27, № 2. pp. 139–146.
253. Lovshin J.A. et al. Dipeptidyl Peptidase 4 Inhibition Stimulates Distal Tubular Natriuresis and Increases in Circulating SDF-1α 1-67 in Patients With Type 2 Diabetes // Diabetes Care. 2017. Vol. 40, № 8. pp. 1073–1081.
254. Tögel F. et al. Renal SDF-1 signals mobilization and homing of CXCR4-positive cells to the kidney after ischemic injury // Kidney Int. 2005. Vol. 67, № 5. pp. 1772–1784.
255. Hattori S. Sitagliptin reduces albuminuria in patients with type 2 diabetes [Rapid

Communication] // Endocr. J. 2011. Vol. 58, № 1. pp. 69–73.
256. Sakata K. et al. Efficacy of alogliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, on glucose parameters, the activity of the advanced glycation end product (AGE) - receptor for AGE (RAGE) axis and albuminuria in Japanese type 2 diabetes // Diabetes. Metab. Res. Rev. 2013. Vol. 29, № 8. pp. 624–630.
257. Groop P.H. et al. Linagliptin lowers albuminuria on top of recommended standard treatment in patients with type 2 diabetes and renal dysfunction // Diabetes Care. 2013. Vol. 36, № 11. pp. 3460–3468.
258. White W.B. et al. Alogliptin after Acute Coronary Syndrome in Patients with Type 2 Diabetes // N. Engl. J. Med. 2013. Vol. 369, № 14. pp. 1327–1335.
259. Scirica B.M. et al. Saxagliptin and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus // N. Engl. J. Med. 2013. Vol. 369, № 14. pp. 1317–1326.
260. Esaki H. et al. Renoprotective effect of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in patients with type 2 diabetes mellitus // Front. Pharmacol. 2017. Vol. 8, № NOV. pp. 1–10.
261. Agarwal R. et al. A prospective study of multiple protein biomarkers to predict progression in diabetic chronic kidney disease // Nephrol. Dial. Transplant. 2014. Vol. 29, № 12. pp. 2293–2302.
262. Pena M.J. et al. A panel of novel biomarkers representing different disease pathways improves prediction of renal function decline in type 2 diabetes // PLoS One. Public Library of Science, 2015. Vol. 10, № 5. pp. 1–16.
263. Cohen-Bucay A., Viswanathan G. Urinary markers of glomerular injury in diabetic nephropathy // International Journal of Nephrology. 2012. Vol. 2012.
264. Bolignano D. et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as an early biomarker of nephropathy in diabetic patients // Kidney Blood Press. Res. 2009. Vol. 32, № 2. pp. 91–98.
265. Thrailkill K.M. et al. Disease and gender-specific dysregulation of NGAL and MMP-9 in type 1 diabetes mellitus // Endocrine. 2010. Vol. 37, № 2. pp. 336–343.
266. Смирнов А.В., Хасун М., Каюков И.Г. Уромодулин сыворотки как ранний биомаркер атрофии канальцев и интерстициального фиброза у пациентов с гломерулопатиями // Терапевтический архив. 2018. № 6. С. 41–47.
267. Garimella P.S. et al. Urinary uromodulin, kidney function, and cardiovascular disease in elderly adults // Kidney Int. 2015.
268. Prajczer S. et al. Evidence for a role of uromodulin in chronic kidney disease progression // Nephrol. Dial. Transplant. 2010.
269. Shlipak M.G. et al. Uromodulin concentrations are not associated with incident CKD among persons with coronary artery disease // BMC Nephrol. 2011. Vol. 12, № 1. pp. 2.
270. Sejdiu I., Torffvit O. Decreased urinary concentration of Tamm-Horsfall protein is associated with development of renal failure and cardiovascular death within 20 years in type 1 but not in type 2 diabetic patients. // Scand. J. Urol. Nephrol. 2008. Vol. 42, № 772858745. pp. 168–174.
271. Holmquist P. et al. Early urinary changes in Tamm-Horsfall protein and epidermal

growth factor in diabetec children // Pediatr. Nephrol. 2001. Vol. 16, № 6. pp. 488–492.
272. Piwowar A. et al. Plasma cystatin C concentration in non-insulin-dependent diabetes mellitus: relation with nephropathy // Arch Immunol Ther Exp. 1999. Vol. 47, № 5. pp. 327–331.
273. Pucci L. et al. Cystatin C and estimates of renal function: Searching for a better measure of kidney function in diabetic patients // Clin. Chem. 2007. Vol. 53, № 3. pp. 480–488.
274. Kravaritou M. et al. Evidence that even “normal” albuminuria may denote incipient GFR reduction in patients with type 2 diabetes mellitus // Diabetes Res. Clin. Pract. 2009. Vol. 85, № 3. pp. 317–321.
275. Brosius F.C. et al. Mouse models of diabetic nephropathy. // J. Am. Soc. Nephrol. 2009. Vol. 20, № 12. pp. 2503–2512.
276. Kim N.H. et al. Plasma and urinary vascular endothelial growth factor and diabetic nephropathy in Type 2 diabetes mellitus // Diabet Med. 2004. Vol. 21, № 6. pp. 545–551.
277. Aaltonen P. et al. Changes in the expression of nephrin gene and protein in experimental diabetic nephropathy. // Lab. Invest. 2001. Vol. 81, № 9. pp. 1185–1190.
278. Doublier S. et al. Nephrin expression is reduced in human diabetic nephropathy // Diabetes. 2003. Vol. 52, № 4. pp. 1023–1030.
279. Tramonti G., Kanwar Y.S. Review and discussion of tubular biomarkers in the diagnosis and management of diabetic nephropathy // Endocrine. 2013. Vol. 43, № 3. pp. 494–503.
280. Nistala R. et al. Prevention of obesity-induced renal injury in male mice by DPP4 inhibition // Endocrinology. 2014. Vol. 155, № 6. pp. 2266–2276.
281. Байрашева В.К., Бабенко А.Ю., Дмитриев Ю.В. Нефропротективные свойства ингибитора ДПП-4 в условиях экспериментальной диабетической нефропатии // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 3. С. 247–248.
282. He H. et al. Absorption, Metabolism, and Excretion of [14C]Vildagliptin, a Novel Dipeptidyl Peptidase 4 Inhibitor, in Humans // Drug Metab. Dispos. 2009. Vol. 37, № 3. pp. 536–544.
283. Pala L. et al. Dipeptidyl peptidase-IV expression and activity in human glomerular endothelial cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2003. Vol. 310, № 1. pp. 28–31.
284. Байрашева В.К. Влияние метформина и вилдаглиптина на морфофункциональное состояние почек при сахарном диабете 2 типа/ автореферат, 2017. с. -23
285. Wang Y. et al. Attenuation of renovascular damage in Zucker diabetic fatty rat by NWT-03, an egg protein hydrolysate with ACE- and DPP4-inhibitory Activity. // PLoS One / ed. Tomé D. 2012. Vol. 7, № 10. p. 467.
286. Kolaczynski W.M. et al. Microvascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes Treated with Vildagliptin vs. Sulfonylurea: A Retrospective Study Using German Electronic Medical Records. // Diabetes Ther. 2016. Vol. 7, № 3. pp. 483–496.

287. Nakagawa S. et al. Molecular Markers of Tubulointerstitial Fibrosis and Tubular Cell Damage in Patients with Chronic Kidney Disease // PLoS One / ed. Abe H. 2015. Vol. 10, № 8. p. e0136994.
288. Hisamichi M. et al. Increase in urinary markers during the acute phase reflects the degree of chronic tubulointerstitial injury after ischemia-reperfusion renal injury. // Biomarkers. 2017. Vol. 22, № 1. pp. 5–13.
289. Mahendran K.B. et al. Plasma and Urinary Type IV Collagen Levels for Early Detection of Nephropathy in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. // Int. J. Health Sci. (Qassim). 2016. Vol. 10, № 4. pp. 492–498.