

На правах рукописи

КЛИМОНТОВ
ВАДИМ ВАЛЕРЬЕВИЧ

**ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ
И РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА ПОРАЖЕНИЯ ПОЧЕК
У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1-ГО ТИПА**

14.00.05 – внутренние болезни
14.00.03 – эндокринология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Новосибирск – 2008

Работа выполнена в Новосибирском государственном медицинском университете Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию

Научный консультант:

доктор медицинских наук,
профессор

Бондарь Ирина Аркадьевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор

Галенок Валерий Александрович

доктор медицинских наук,
профессор

Барбараш Ольга Леонидовна

доктор медицинских наук,
профессор

Нелаева Алсу Асатовна

Ведущая организация: Федеральное государственное учреждение Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий, г. Москва

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2008 года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.02 при Новосибирском государственном медицинском университете Росздрава по адресу: 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирского государственного медицинского университета Росздрава

Автореферат разослан « ____ » _____ 2008 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Дробышева В. П.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Сахарный диабет (СД) является одной из наиболее важных проблем современной клинической медицины. Рост распространенности СД в конце XX – начале XXI века приобрел характер эпидемии (Zimmet P. et al., 2001). По экспертным оценкам, численность больных СД в мире к 2030 году превысит 360 миллионов человек (Wild S. et al., 2004). В Российской Федерации число зарегистрированных больных СД за последние 15 лет удвоилось и в настоящее время составляет более двух миллионов (Дедов И. И., Балаболкин М. И., 2005). Медико-социальное значение СД как заболевания с ранней инвалидизацией и высокой смертностью определяется его хроническими осложнениями.

Диабетическая нефропатия (ДН) – одно из наиболее частых, тяжелых и прогностически неблагоприятных осложнений СД. В последние годы ДН заняла лидирующие позиции среди причин терминальной почечной недостаточности в индустриально развитых странах (Harvey J. N., 2003; Rossing P., 2005). Наиболее тяжелое течение ДН отмечается при СД 1-го типа, при котором клинически выраженное поражение почек развивается у 30 – 50 % больных. Уремия является наиболее частой, после сердечно-сосудистых катастроф, причиной смерти больных СД 1-го типа (Шестакова М. В. и соавт., 2001; Morrish N. J. et al., 2001). Неудовлетворительные результаты лечения ДН связаны со сложностью патогенеза, длительным бессимптомным течением, поздней диагностикой.

По современным представлениям, ведущую роль в формировании ДН играет гипергликемия и связанные с ней нарушения метаболизма: неферментативное гликирование, дислипидемия, оксидативный стресс и другие, а также артериальная и внутриклубочковая гипертензия (Дедов И. И., Шестакова М. В., 2000, 2006; Нелаева А. А. и соавт., 1998, 2003; Cooper M. E. et al., 1998, 2001; Schrijvers V. F. et al., 2004; Wolf G., 2004; Fioretto P. et al., 2006; Forbes J. M. et al., 2007). В последнее десятилетие обсуждается участие иммуновоспалительных реакций в развитии диабетического поражения почек (Бондарь И. А., 1997; Галенок В. А., Жук Е. А., 1998; Mezzano S. et al., 2004; Chow F. Y. et al., 2005, 2006).

Несмотря на интенсивные исследования, многие аспекты формирования ДН, особенно ее допротеинурических стадий, недостаточно ясны. В частности, требуют изучения взаимосвязи между особенностями клинического течения СД, поражениями различных внутренних органов, нарушениями метаболизма, гемодинамики и начальными структурно-функциональными изменениями в почках. Необходимо определить значимость изменений обмена внеклеточного матрикса, роль различных факторов роста и цитокинов в развитии начальных стадий ДН. Требуется доказать значение воспалительных реакций в формировании нефросклероза у пациентов с СД. В числе актуальных задач – определение факторов, определяющих темпы развития ДН, и выявление новых диагностических маркеров данного осложнения. Разработка этих вопросов имеет принципиальное значение для оптимизации подходов к ранней диагностике и профилактике ДН и может рассматриваться как решение важной научной проблемы. Указанные положения определили цель и задачи исследования.

Цель исследования: определить особенности формирования и диагностические маркеры начальных этапов поражения почек у больных сахарным диабетом 1-го типа.

Задачи исследования:

1. Дать характеристику поражений внутренних органов, нарушений метаболизма и гемодинамики у больных сахарным диабетом 1-го типа с начальными стадиями нефропатии.

2. Изучить начальные структурно-функциональные изменения в почках при сахарном диабете 1-го типа и определить их соотношения с клиническими особенностями заболевания.

3. Оценить диагностическую значимость изменений обмена компонентов внеклеточного матрикса и мочевой экскреции фиброгенных факторов роста у больных с диабетической нефропатией.

4. Определить роль изменений почечной гемодинамики в формировании разных стадий диабетической нефропатии.

5. Установить механизмы развития и определить маркеры хронического воспаления в почках у пациентов с диабетической нефропатией.

6. Выявить факторы риска раннего развития нефропатии у больных сахарным диабетом 1-го типа.

Научная новизна. В комплексном исследовании с применением клинических, морфологических, лабораторных методов выявлены особенности формирования начальных стадий ДН и определены возможности ранней диагностики ДН у больных СД 1-го типа.

Доказано, что формирование начальных этапов нефропатии у больных СД 1-го типа с нормальной экскрецией альбумина с мочой и микроальбуминурией определяется индуцируемыми гипергликемией изменениями дифференцировки и синтетической функции клеток почечных клубочков и канальцев, которые приводят к нарушению обмена компонентов внеклеточного матрикса и развитию хронического низкоинтенсивного воспаления в почках.

Выявлены новые закономерности морфофункциональных изменений почек на начальных стадиях ДН: установлены прямые взаимосвязи между повышением альбуминурии и развитием перигломерулярного склероза, уменьшением относительного числа подоцитов в клубочках, утолщением и ретракцией малых отростков подоцитов, уменьшением числа фенестр эндотелия капилляров клубочков, ультраструктурными изменениями эпителиоцитов канальцев, атрофией канальцевого эпителия, склерозом интерстиция и артериол.

Показано, что формирование начальных этапов гломерулосклероза сопровождается аккумуляцией минорных (IV и VI тип) и появлением интерстициальных (I и III тип) коллагенов в клубочках, а развитие тубулоинтерстициального склероза характеризуется преимущественным накоплением коллагенов III и IV типа в базальных мембранах (БМ) канальцев и в интерстиции почек. Возрастание интенсивности синтеза коллагена при СД не компенсируется повышением активности коллагенолитических ферментов, что создает условия для аккумуляции коллагенов в почках.

Показано возникновение нарушений обмена сульфатированных гликозаминогликанов (ГАГ) на начальных стадиях ДН, установлена определяющая роль гипергликемии в развитии этих нарушений. Определена

информативность исследования фракционного состава ГАГ мочи в ранней диагностике ДН. Показано, что появление микро- и макроальбуминурии связано с увеличением доли гепарансульфата и дерматансульфата в составе экскретируемых фракций ГАГ.

Определена диагностическая значимость исследования мочевой экскреции фиброгенных факторов роста: трансформирующего фактора роста β (ТФР- β), инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1), фактора роста эндотелия сосудов (ФРЭС) на начальных стадиях нефропатии у больных СД 1-го типа. Установлено, что увеличение мочевой экскреции данных факторов отражает процесс развития диабетического нефросклероза.

Показано значение клубочковой гиперfiltrации для раннего (в первые 5 лет после клинической манифестации СД 1-го типа) развития микроальбуминурии. Установлено значение артериальной гипертензии (АГ), анемии, снижения массы тела, увеличения резистивных свойств почечных артерий как факторов, способствующих снижению фильтрационной функции почек при СД 1-го типа.

Впервые определена роль воспаления в развитии начальных стадий нефропатии у больных СД. Обнаружено усиление экспрессии молекул межклеточной адгезии (ICAM-1) в клетках почечных канальцев и клубочков, а также появление CD-68-позитивных моноцитов/макрофагов в интерстиции почек у больных СД 1-го типа с нормо- и микроальбуминурией. Установлена значимость исследования уровня sICAM-1 в сыворотке крови, а также мочевой экскреции провоспалительных цитокинов: интерлейкина-1 β (IL-1 β), моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), хемокина, экспрессируемого и секретируемого Т-клетками при активации (RANTES), в качестве диагностических маркеров хронического низкоинтенсивного воспаления в почках при СД. Показана роль гипергликемии, активации синтеза ростовых факторов, анемии в развитии воспалительных реакций в почках при СД. Сформулирована новая концепция развития ДН, рассматривающая хроническое воспаление как важное звено в развитии нефросклероза.

Практическая значимость работы заключается в выявлении клинических и морфофункциональных особенностей, новых диагностических маркеров начальных стадий ДН.

Показано, что формирование ДН у больных СД 1-го типа характеризуется ранним развитием диастолической или систолодиастолической АГ, анемии, гипергомоцистеинемии, тесной ассоциацией с кардиоваскулярной автономной нейропатией, отсутствием ночного снижения артериального давления (АД), сниженной вариабельностью ритма сердца (BPC), изменением геометрии и нарушением диастолической функции левого желудочка сердца. Выявленные особенности необходимо учитывать при диспансерном наблюдении и клиническом ведении больных СД 1-го типа.

Оптимизированы подходы к ранней диагностике ДН. Предложены новые неинвазивные методы выявления нефропатии, основанные на определении мочевой экскреции метаболитов компонентов внеклеточного матрикса (пептидно-связанный, свободный гидроксипролин, сульфатированные ГАГ) и фиброгенных факторов роста (ТФР- β , ИФР-1, ФРЭС). Разработаны критерии диагностики хронического низкоинтенсивного воспаления в почках при СД. В качестве маркеров данного процесса предложено определение sICAM-1 в

сыворотке крови, а также исследование IL-1 β и хемокинов (MCP-1 и RANTES) в моче.

Определены наиболее ранние морфологические критерии ДН. Показано значение иммуногистохимического исследования коллагенов I, III, IV и VI типа в биоптатах почек для диагностики начальных этапов диабетического нефросклероза. Установлены возможности типирования CD68-позитивных моноцитов/макрофагов и ICAM-1 для выявления воспаления в почках при СД.

Выделены факторы риска раннего развития микроальбуминурии (в первые 5 лет болезни) и протеинурии (в первые 10 лет) у больных СД 1-го типа. Показано, что быстрому развитию ДН способствует не только гипергликемия, но и клубочковая гиперфилтрация, раннее формирование АГ, дислипидемия, окислительный стресс, повышенная продукция фиброгенных факторов роста и цитокинов. Обоснован комплексный подход к профилактике ДН, основанный на контроле гликемии, дислипидемии, системной и внутриклубочковой гипертензии, оксидативного стресса, метаболизма внеклеточного матрикса и хронического воспаления в почках.

Внедрение результатов исследования. Результаты работы внедрены в практику работы Новосибирского областного диабетологического центра, отделения эндокринологии Государственной Новосибирской областной клинической больницы. Основные фрагменты работы используются в учебном процессе (лекции и практические занятия по эндокринологии и внутренним болезням) в Новосибирском государственном медицинском университете (НГМУ). По материалам диссертации написана монография «Почки при сахарном диабете: патоморфология, патогенез, ранняя диагностика, лечение» (Новосибирск, 2008), учебное пособие для врачей и студентов «Диабетическая нефропатия» (Новосибирск, 2008), информационное письмо для врачей (Новосибирск, 2004).

Положения, выносимые на защиту:

1. Темпы развития начальных этапов нефропатии у больных СД 1-го типа определяются индуцируемыми гипергликемией нарушениями дифференцировки и синтетической функции клеток почечных клубочков и канальцев, нарушениями обмена компонентов внеклеточного матрикса, наличием артериальной гипертензии, клубочковой гиперфилтрации, дислипидемии, хроническим воспалением в почках.

2. Нефрокардиальный континуум у больных СД 1-го типа начинает формироваться на допротеинурических стадиях нефропатии, его компонентами являются: артериальная гипертензия, дислипидемия, анемия, кардиоваскулярная автономная нейропатия со снижением вариабельности ритма сердца, гипертрофия и диастолическая дисфункция левого желудочка сердца.

3. Развитие диабетического нефросклероза характеризуется качественными и количественными изменениями состава коллагена в клубочках и в интерстиции почек, нарушением равновесия между синтезом и распадом коллагена, сложными нарушениями обмена сульфатированных гликозаминогликанов, усилением синтеза фиброгенных факторов роста (ТФР- β , ИФР-1, ФРЭС), окислительной модификацией белков.

4. Формирование диабетической нефропатии сопровождается развитием хронического низкоинтенсивного воспаления в почках, которое характеризуется провоспалительной активацией клеток клубочков и

канальцев, миграцией в почки моноцитов/макрофагов, ростом содержания sICAM-1 в крови, увеличением мочевой экскреции провоспалительных цитокинов (IL-1 β , MCP-1, RANTES).

Исследование выполнено на кафедре эндокринологии (зав. – д. м. н., профессор И. А. Бондарь) НГМУ на базе Государственной Новосибирской областной клинической больницы. Отдельные фрагменты работы выполнялись на кафедре патологической анатомии (зав. – академик РАМН, д. м. н., профессор В. А. Шкурупий) НГМУ и в группе биохимии (зав. – ст. н. с. А. Б. Пупышев) ЦНИЛ НГМУ, в лаборатории клинической биофизики (зав. – д. м. н. Л. Б. Ким) Научного центра клинической и экспериментальной медицины СО РАМН, в лаборатории ультраструктурных исследований (зав. – д. б. н., профессор Н. П. Бгатова) НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, в Новосибирском областном клиническом диагностическом центре, в ООО «Лабораторная диагностика». Автор выражает искреннюю благодарность за поддержку и квалифицированную помощь научному консультанту д. м. н., профессору И. А. Бондарь, сотрудникам кафедр и учреждений, принимавшим участие в совместных исследованиях, врачам клиники.

Протокол исследования одобрен Комитетом по этике НГМУ (протокол заседания № 1/11 от 14. 11. 2002).

Апробация работы. Материалы диссертации представлены в виде докладов на 37-м, 38-м, 40-м, 41-м и 43-м конгрессах Европейской ассоциации по изучению сахарного диабета (EASD: Глазго, 2001; Будапешт, 2002; Мюнхен, 2004; Афины, 2005; Амстердам, 2007), на 18-м конгрессе Международной диабетической федерации (IDF: Париж, 2003), на первых международных курсах последипломного образования EASD (Санкт-Петербург, 2007), на IV и V Всероссийских конгрессах эндокринологов (Санкт-Петербург, 2001; Москва, 2006), на 3-м и 4-м Всероссийских диабетологических конгрессах (Москва, 2004, 2008), на Всероссийской научно-практической конференции «Клиническая эндокринология — достижения и перспективы» (Санкт-Петербург, 2003), на Всероссийской конференции «Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные, экологические и клинические аспекты» (Новосибирск, 2004), на Второй Сибирской конференции эндокринологов (Красноярск, 2003), на межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные проблемы современной эндокринологии» (Новосибирск, 2005).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 70 научных работ, в том числе одна монография, 23 работы в ведущих рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора наук.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, характеристики больных, дизайна и методов исследования, шести глав собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов и практических рекомендаций. Работа изложена на 352-х страницах, содержит 67 таблиц, 56 рисунков. Список литературы включает 728 источников (69 отечественных и 659 иностранных).

ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ, ДИЗАЙН И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика больных. Обследовано 345 больных СД 1-го типа, в том числе 152 мужчины и 193 женщины, от 15 до 60 лет (средний возраст – $30,1 \pm 10,4$ года). Длительность заболевания до пяти лет включительно имели 140 больных, у 43-х из них длительность диабета не превышала одного года. У 92-х пациентов длительность СД составила от 6-ти до 10-ти лет, у 85 — от 11-ти до 20-ти лет, у 28-и – свыше 20-ти лет. Кетоацидотические комы в анамнезе имели 77 пациентов, гипогликемические комы – 43. 9 больных поступили в клинику в состоянии кетоацидоза. Средний уровень HbA_{1c} составил $10,0 \pm 2,7$ %. Уровень HbA_{1c} менее 7 % имели 11,9 % обследованных, у остальных пациентов значения были повышены. Средняя доза инсулина составила $0,67 \pm 0,18$ ЕД/кг/сут.

Диабетическая ретинопатия выявлена у 185-ти человек (53,6 %), периферическая полинейропатия – у 243-х (70,4 %), сердечно-сосудистая автономная нейропатия – у 195-ти (56,5 %), стеатоз печени – у 53-х (15,4 %), катаракта — у 32-х (9,3 %), макроангиопатия нижних конечностей – у 30-ти (8,7 %), миокардиодистрофия – у 26-ти (7,5 %), синдром диабетической стопы с трофическими язвами – у 19-ти пациентов (5,5 %).

Распределение больных на группы проводили в зависимости от выраженности ДН на основании классификации И. И. Дедова и М. В. Шестаковой (2000). Основные группы составили больные с нормальной альбуминурией (1-я группа, 138 человек) и с микроальбуминурией (2-я группа, 135 человек), у остальных диагностирована ДН на стадии протеинурии или додиализная ХПН (3-я группа, 72 человека). Клиническим проявлением нефропатии у больных последней группы являлись отеки (51 пациент), в том числе в рамках нефротического синдрома (13 больных). Уровень креатинина крови у больных с ХПН ($n = 29$) составил $226,0 \pm 147,7$ мкмоль/л, расчетная СКФ – $43,4 \pm 23,4$ мл/мин/1,73 м². У большинства этих пациентов (19 человек) имела место 3-я стадия хронической болезни почек по классификации «K/DOQI» (2002), у семи — 4-я стадия, у трех пациентов – 5-я стадия.

Дизайн исследования представлен на рисунке 1. Основная часть данных получена в одномоментном (поперечном) исследовании. Изучение маркеров обмена коллагена, протеогликанов, мочевой экскреции факторов роста и цитокинов (ТФР- β , ИФР-1, МСР-1) проведено в динамике лечения фозиноприлом (шестимесячное открытое проспективное исследование). Для определения факторов риска микроальбуминурии и протеинурии ретроспективно сформированы группы с быстрым и медленным развитием ДН (дизайн «случай – контроль»).

Методы исследования. Нефрологическое обследование больных включало УЗИ почек, исследование мочевого осадка, повторное исследование суточной протеинурии или альбуминурии (при протеинурии $< 0,5$ г/сут), исследование азотвыделительной функции почек и СКФ (расчетным методом по формуле Cockcroft-Gault). У части больных ($n = 27$) исследован функциональный почечный резерв (ФПР) по приросту СКФ после пероральной нагрузки мясным белком ($0,7$ г/кг массы тела).

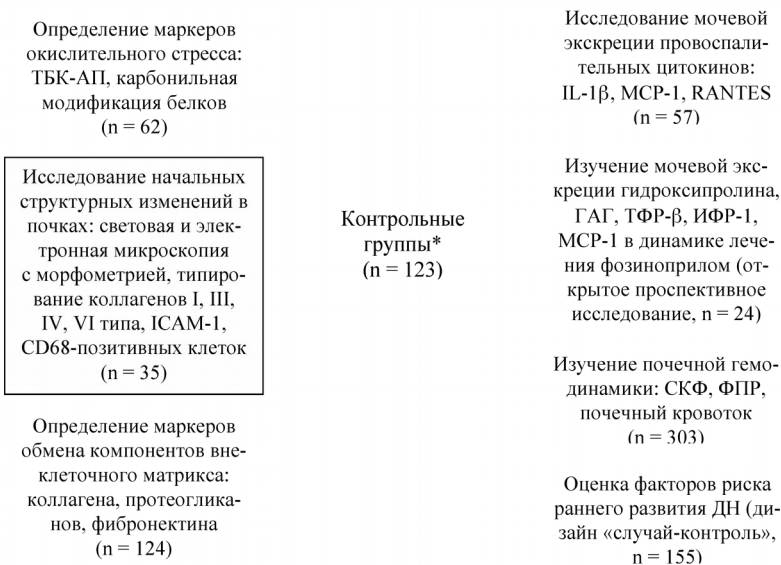


Рисунок 1. Дизайн исследования

Примечание: * — для специальных методов исследования.

Специальные лабораторные исследования. Содержание свободного и пептидно-связанного гидроксипролина в моче, коллагенолитическую активность (КЛА) сыворотки крови определяли по П. Н. Шараеву и соавт. (1987, 1990). Определение содержания суммарных сульфатированных ГАГ в моче осуществляли по методу E. W. Gold (1981) в модификации Г. А. Пауль, Т. В. Русовой (1990), исследование фракций ГАГ проводили с помощью электрофоретического разделения по С. А. Реннок (1976). Определение концентрации фибронектина в сыворотке крови осуществляли методом иммуоферментного анализа (ИФА) с помощью коммерческих наборов «ИФА-Фн» ЗАО «НВО Иммунотех» (Россия).

Определение концентрации ТБК-активных продуктов (ТБК-АП) в сыворотке крови проводили по М. С. Гончаренко, А. М. Латиновой (1985). Степень окислительной модификации белков сыворотки крови оценивали по содержанию карбонильных групп, количество которых определяли согласно С. D. Smith et al. (1991). Исследование активности лизосомальных ферментов проводили в сыворотке крови спектрофотометрическим методом: N-ацетил-

β -D-глюкозаминидазы и β -галактозидазы по А. L. Barret (1972), кислой РНК-азы – по С. De Duve (1971).

Исследование концентрации ТФР- β , ФРЭС, IL-1 β , MCP-1 и RANTES в моче, sICAM-1 в сыворотке крови проводили методом ИФА. Для определения ТФР- β , ФРЭС и sICAM-1 использовали наборы фирмы «Bender MedSystems» (Австрия), IL-1 β – «Вектор Бест» (Россия), MCP-1 и RANTES – «Biosource» (Бельгия). Определение концентрации ИФР-1 осуществляли методом усиленной ферментной хемилюминисценции на анализаторе «Immulite One» (фирма DPC, США), с использованием наборов фирмы-производителя прибора.

В качестве контроля для лабораторных исследований использованы образцы крови 55 здоровых доноров (26 мужчин и 29 женщины, от 20 до 49 лет), а также образцы мочи 48 здоровых лиц (22 мужчины и 26 женщин, от 18 до 55 лет).

Инструментальные исследования. Суточное мониторирование артериального давления (СМАД) осуществляли осциллометрическим методом на аппарате «Tonoport IVa» фирмы «Marquette HELLIGE» (США). Эхокардиографию проводили в М-режиме на аппарате «MEGAS» фирмы «Esaote S.p.A.» (Италия). Оценку диастолической функции левого желудочка проводили с помощью доплерэхокардиографии. Кардиоинтервалографию (КИГ) осуществляли по методике Р. М. Баевского и соавт. (1984) с оценкой показателей сердечного ритма в покое и при переходе в ортостаз. Холтеровское мониторирование ЭКГ с оценкой ВРС проводили на аппарате «Markett Hellige» (США) с последующей компьютерной обработкой данных с помощью системы «MARS 8000». Количественная оценка почечного кровотока на уровне магистральной, сегментарной, междолевой, дуговой артерий проводилась с помощью УЗДГ на аппарате «Aloca-600» (США).

Морфологические исследования. Пункционная нефробиопсия выполнялась под ультразвуковым контролем на аппарате «Philips» (США). Для количественной оценки выраженности изменений в почках определяли соотношение: объем мезангия/объем клубочка, а также объемную плотность интерстиция в корковом веществе с помощью окулярной сетки (Г. Г. Автандилов, 1990). Процентное соотношение эндотелиоцитов, мезангиоцитов и подоцитов в клубочках определяли на полутонких срезах. Электронно-микроскопическую морфометрию структур нефронов проводили при увеличении в 38000.

Срезы для иммуногистохимических исследований окрашивали стрептовидин-биотиновым методом с помощью моноклональных антител с докраской ядер гематоксилином. Типирование коллагена I типа осуществляли с помощью наборов фирмы «ИМТЕК» (Москва), коллагена III, IV и VI типов – «Novocastra Laboratories Ltd» (Великобритания). ICAM-1 выявляли с помощью антител к антигену CD54, макрофаги – с помощью

антител к антигену CD68 фирмы «Novocastra Laboratories Ltd» (Великобритания).

В качестве контроля при проведении светооптических исследований использовали почки 15 лиц, погибших от черепно-мозговых травм. При судебно-медицинском исследовании этих лиц не выявлено признаков хронических заболеваний, отравлений, травматических и иных повреждений почек. При проведении электронной микроскопии в качестве контроля использовали неизмененные фрагменты почек пяти больных с нефрокарциномами. Образцы забирали во время нефрэктомий.

Статистическая обработка проведена с использованием пакета STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, США, 2001). Используются методы описательной статистики, дисперсионный анализ, корреляционный анализ, многофакторный регрессионный пошаговый анализ, многофакторный логистический анализ. Нормальность распределения проверяли по критерию Колмогорова-Смирнова. Для оценки межгрупповых различий количественных данных с нормальным распределением применяли *t*-критерий Стьюдента или ANOVA, для данных с иным распределением – критерий Манна-Уитни или ANOVA Краскела-Уоллиса. Сравнение частот бинарных признаков проводили с помощью критерия χ^2 или с помощью точного критерия Фишера. Изменения показателей в динамике лечения оценивали с помощью критерия Уилкоксона. Данные для признаков с нормальным распределением представлены как средние и стандартные отклонения ($M \pm SD$), а данные с распределением, отличным от нормального — как медианы, 25-й и 75-й процентиля или (при малом размере выборок) как медианы, наименьшие и наибольшие значения.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клинические особенности больных СД 1-го типа с начальными стадиями нефропатии

При комплексной оценке результатов СМАД параметры, характерные для изолированной диастолической АГ, выявлены у 9-ти (15 %) пациентов с нормальной экскрецией альбумина с мочой (ЭАМ) и у 23-х (38 %) с микроальбуминурией. Систолюдиастолическая гипертензия обнаружена у пяти (8 %) больных с нормальной ЭАМ и шести (10 %) с микроальбуминурией. Таким образом, общая частота АГ у больных с микроальбуминурией оказалась в 2,1 раза выше, чем у больных с нормальной ЭАМ (47,5 % и 22,6 %, $p = 0,007$). У большинства больных с выраженной ДН выявлена систолюдиастолическая АГ ($n = 18$; 75 %), реже наблюдалось изолированное повышение диастолического артериального давления (ДАД; $n = 4$; 17 %); суммарная частота АГ в данной группе составила 92 %.

Уменьшение степени ночного снижения систолического артериального давления (САД) зафиксировано у 56 % больных с нормоальбуминурией, у 62 % с микроальбуминурией и у 64 % с протеинурией (суточный профиль «non-dipper»). У 10 %, 12 % и 23 % больных 1-й, 2-й и 3-й групп

соответственно ночные цифры САД оказались выше дневных (профиль «night-peaker»). Уменьшение или отсутствие ночного снижения ДАД обнаружено у 30 % больных с нормоальбуминурией, у 35 % с микроальбуминурией и у 73 % больных с протеинурией. Превышение ночных показателей ДАД над дневными зафиксировано у 7 %, 9 % и 9 % больных каждой группы соответственно.

Найденная взаимосвязь между суточными профилями гемодинамики и стадией ДН может быть опосредована через нарушение вегетативной регуляции работы сердечно-сосудистой системы, вызванной диабетической автономной нейропатией. Последняя, по данным стандартных вегетативных ЭКГ-тестов, диагностирована у 38,1 % больных с нормоальбуминурией, у 60,8 % пациентов с микроальбуминурией и 88,8 % больных с протеинурией. При КИГ у пациентов с нормальной ЭАМ и микроальбуминурией зафиксировано снижение значений медианы, моды и вариационного размаха кардиоинтервалов и повышение показателей амплитуды моды, индекса вегетативного равновесия и индекса напряженности в положении лежа и в ортостазе (различия с контролем статистически значимы: все $p < 0,05$). Наибольшей выраженности изменения этих показателей достигали у больных с протеинурией.

Спектральный анализ ВРС показал значимое уменьшение мощности спектра variability кардиоинтервалов в диапазоне высоких и низких частот (HF, LF) у больных с нормо- и микроальбуминурией в сравнении с контролем (HF: 206 ± 192 , 199 ± 205 и 389 ± 106 ms²; LF: 514 ± 337 , 451 ± 317 и 831 ± 202 ms² соответственно). Показатели HF, LF, а также мощность спектра очень низких частот (VLF) у больных с протеинурией были достоверно ниже в сравнении с контролем и другими группами больных (HF: 32 ± 45 ms²; LF: 104 ± 200 ms²; VLF: 314 ± 505 ms²). Указанные изменения свидетельствуют о снижении активности парасимпатического и симпатического отделов вегетативной нервной системы, а также о росте гуморальных механизмов регуляции ритма по мере увеличения тяжести ДН.

Частота различных вариантов геометрии левого желудочка на разных стадиях ДН представлена в таблице 1. Частота ГЛЖ в группе больных с нормоальбуминурией составила 11 %, в группе с микроальбуминурией – 25 %, в группе с протеинурией – 60 % ($\chi^2 = 4,1$, $p = 0,13$). Концентрический тип ГЛЖ оказался наиболее тесно связан со стадией ДН ($\chi^2 = 9,8$, $p = 0,008$).

Таблица 1. Геометрия левого желудочка у больных СД 1-го типа с разной выраженностью ДН

Тип геометрии левого желудочка	Группы больных					
	1-я (n = 35)		2-я (n = 40)		3-я (n = 30)	
	n	%	n	%	n	%
Норма	29	83 %	28	70 %	8	27 %
Концентрическое ремоделирование	2	6 %	2	5 %	4	13 %
Концентрическая гипертрофия	0	0 %	2	5 %	7	23 %
Эксцентрическая гипертрофия	4	11 %	8	20 %	11	37 %

При корреляционном анализе выявлены значимые связи между относительной толщиной стенки (ОТС), индексом массы миокарда левого

желудочка (ИММЛЖ) и суточной протеинурией ($r = 0,39$, $p = 0,00005$ и $r = 0,33$, $p = 0,0007$ соответственно). В многофакторном регрессионном анализе увеличению ИММЛЖ способствовали рост протеинурии и ДАД, а также снижение уровня гемоглобина ($R^2 = 0,39$, $p = 0,0005$). Детерминантами ОТС оказались возраст и ДАД ($R^2 = 0,35$, $p = 0,00009$).

Изучение транзитрального потока крови выявило диастолическую дисфункцию левого желудочка у 14-ти из 42-х обследованных больных (33 %). В большинстве случаев диастолическая дисфункция формировалась по типу нарушенной релаксации на фоне нормальной систолической функции сердца. В многофакторном логистическом регрессионном анализе установлено, что развитию диастолической дисфункции левого желудочка способствуют увеличение длительности СД, а также снижение уровня гемоглобина и СКФ (параметры модели: $\chi^2 = 15,4$, $p = 0,009$).

Анемия. Частота анемии составила 9,4 % у больных с нормальной ЭАМ, 17 % – при наличии микроальбуминурии, 35,7 % – у пациентов с протеинурией и нормальной азотвыделительной функцией почек, 75 % – у больных с ХПН.

Метаболические нарушения. Показатели гликемии и HbA_{1c} были статистически не значимо ниже у больных с нормоальбуминурией по сравнению с другими группами больных. Уровень холестерина $> 4,5$ ммоль/л зафиксирован у 42,6 % пациентов с нормоальбуминурией, у 43,5 % обследованных с микроальбуминурией и у 65,1 % больных с протеинурией. Показатели триглицеридов выше целевого уровня ($> 1,7$ ммоль/л) имели 22,1 %, 28,7 % и 45 % пациентов 1-й, 2-й и 3-й группы соответственно.

Медиана концентрации гомоцистеина в сыворотке крови у пациентов с СД составила 14,8 мкмоль/л (25-й и 75-й процентиль: 13,8 и 16,1 мкмоль/л), в контроле – 9,2 мкмоль/л (9,0 и 9,9 мкмоль/л, $p = 0,008$). Содержание гомоцистеина, превышающее верхнюю границу нормы (15 мкмоль/л), обнаружено у 13-ти из 30-ти больных (43,3 %). У больных с микро- и макроальбуминурией зафиксирован более высокий уровень гомоцистеина в сравнении с пациентами с нормальной ЭАМ ($p = 0,03$).

У больных СД в сравнении с контролем обнаружено значимое повышение содержания карбонильных групп в сывороточных белках (922 ± 127 и 757 ± 126 нмоль/г белка, $p < 0,0001$), что свидетельствует о их свободнорадикальном повреждении. Увеличение степени карбонильной модификации белков зарегистрировано у пациентов с нормальной ЭАМ, наиболее высокие показатели выявлены при наличии микро- и макроальбуминурии. Содержание карбонильных групп прямо коррелировало с суточной протеинурией ($r = 0,31$, $p = 0,01$), постпрандиальной гликемией ($r = 0,34$, $p = 0,007$), HbA_{1c} ($r = 0,28$, $p = 0,04$). Карбонильной модификации белков сопутствовала активация перекисного окисления липидов (ПОЛ), о чем свидетельствовало избыточное содержание вторичных продуктов липопероксидации (ТБК-АП) в сыворотке крови. Средняя концентрация ТБК-АП превышала контроль в 1,6 раза ($1,49 \pm 0,81$ и $0,92 \pm 0,18$ мкмоль/мл, $p = 0,001$). Наиболее выраженная активация ПОЛ выявлена у больных с микро- и макроальбуминурией. В регрессионном анализе с количеством карбонильных групп в белках были ассоциированы: суточная протеинурия, постпрандиальная гликемия и ТБК-АП ($R^2 = 0,34$, $p = 0,0007$).

Таким образом, формирование нефропатии у больных СД 1-го типа ассоциировано с высокой частотой диастолической или систоло-диастолической АГ, уменьшением степени ночного снижения АД, кардиоваскулярной автономной нейропатией, снижением ВРС, гипертрофией и диастолической дисфункцией левого желудочка сердца, анемией, дислипидемией, гипергомоцистеинемией, активацией свободно-радикального окисления белков. Выявленные особенности необходимо учитывать при диспансерном наблюдении и клиническом ведении пациентов с СД.

Начальные структурные изменения в почках у больных СД 1-го типа (клинико-морфологический анализ)

Пункционная нефробиопсия проведена 35-ти больным, из которых 17 имели нормальную ЭАМ (3,4–22 мг/сут, медиана 7,9 мг/сут), 16 – микроальбуминурию (31,2–181 мг/сут, медиана 54,9 мг/сут), 2 пациента – протеинурию (0,68 и 0,8 г/сут).

Светооптические изменения. Наиболее ранними и постоянными признаками патологии клубочков у больных СД являлись: избыточная пролиферация мезангиальных клеток, увеличение объема клубочков, утолщение стенок капиллярных петель, экспансия мезангия (таблица 2). Склероз капсулы чаще всего выявлялся при повышенной ЭАМ и был зафиксирован у двух пациентов с протеинурией и у большинства больных (10 из 16) с микроальбуминурией. Полное фиброзирование отдельных клубочков выявлено у одной больной с протеинурией и у одной больной с микроальбуминурией и отечным синдромом.

Таблица 2. Морфологические признаки патологии клубочков у больных СД 1-го типа с начальными стадиями ДН

Признак	Частота обнаружения	
	n	%
Гипертрофия и гиперклеточность клубочков	30	85,7
Утолщение стенок капилляров	27	77,1
Расширение мезангия	23	65,7
Расширение капиллярных петель	21	60
Перигломерулярный склероз	16	45,7
Сужение просвета капсулы	10	28,6
Полное замещение отдельных клубочков соединительной тканью	2	5,7

Важнейшим морфологическим признаком, свидетельствующим о выраженности ДН, является объем мезангия [Osterby R., 1992; White K. E. et al., 2007]. Среди обследованных больных соотношение объема мезангия к объему клубочка оказалось в среднем в 1,3 раза выше, чем в контроле ($22,6 \pm 5,1$ % и $17,2 \pm 2,9$ %, $p = 0,0001$). Отношение мезангий/клубочек было значимо выше у больных с микроальбуминурией, чем у пациентов с нормальной ЭАМ ($25,5 \pm 3,8$ и $18,9 \pm 4,2$ %, $p = 0,0001$). В модели

многофакторного регрессионного анализа предикторами объема мезангия оказались: альбуминурия, HbA_{1c} и САД ($R^2 = 0,51$, $p = 0,05$). Это согласуется с представлениями о ведущей роли гипергликемии и АГ в формировании диабетического гломерулосклероза (Дедов И. И., Шестакова М. В., 2000).

Исследование соотношений основных типов клеток клубочков показало статистически значимое снижение процента подоцитов у больных СД с микроальбуминурией в сравнении с контролем и больными с нормальной ЭАМ ($26,5 \pm 3,0$, $29,8 \pm 0,9$ и $29,7 \pm 2,0$ % соответственно, $p < 0,005$). Это соответствует результатам работ, показавшим уменьшение абсолютного числа подоцитов в клубочках на начальных стадиях ДН (Steffes M. W. et al., 2001; White K. E. et al., 2004). В многофакторном регрессионном анализе значимыми предикторами процента подоцитов оказались длительность СД и суточная потеря белка с мочой ($R^2 = 0,4$, $p = 0,01$). Поскольку подоциты играют важнейшую роль в обеспечении селективной проницаемости почечного фильтра, связь между снижением числа подоцитов и увеличением альбуминурии может носить причинно-следственный характер.

Основным вариантом патологии канальцев являлась мелко- и средневакуольная дистрофия (таблица 3). В части случаев дистрофия сочеталась с атрофическими изменениями в виде уплощения тубулярного эпителия и расширения просвета канальцев. Атрофия канальцев наблюдалась у больных с АГ, микро- и макроальбуминурией. Полученные данные согласуются с результатами работ, зафиксировавших большую частоту канальцевых дисфункций у больных с начальными стадиями ДН (Галенок В. А. и соавт., 2002; Валеева Ф. В. и соавт., 2006; Miralles J. M. et al., 1993).

Таблица 3. Морфологические признаки патологии канальцев и интерстиция у больных СД 1-го типа с начальными стадиями ДН

Признак	Частота обнаружения	
	n	%
Вакуольная дистрофия эпителиоцитов канальцев	35	100
Атрофические изменения эпителиоцитов канальцев	13	37,1
Эозинофильно-белковые массы или белковые цилиндры в просвете канальцев	4	11,4
Склероз интерстиция	9	25,7
Отек интерстиция	8	22,9

У всех больных с формирующимся интерстициальным склерозом была выявлена микроальбуминурия. Объемная доля интерстиция в корковом веществе у больных СД была снижена ($8,6 \pm 2,0$ %, в контроле – $10,2 \pm 1,4$ %, $p = 0,02$), очевидно, за счет увеличения площади, занимаемой клубочками и канальцами. Наиболее низкие показатели зафиксированы у больных с повышенной ЭАМ ($8,2 \pm 1,8$ %).

При исследовании сосудов у большинства пациентов ($n = 21$, 60 %) выявлено утолщение стенок мелких артерий и артериол. У значительной части этих больных (12 человек) в анамнезе имели место подъемы АД или постоянная АГ, у остальных больных утолщение стенок сосудов развилось

при нормальном уровне АД. Все больные с артериолосклерозом и нормальным АД имели микро- или макроальбинурию.

Ультраструктурные изменения. У пациентов с нормоальбинурией прослеживалось диффузное утолщение гломерулярной БМ, однако, ее структура в большинстве случаев была сохранена. У больных с микроальбинурией выявлялись участки неравномерного утолщения, набухания и гомогенизации БМ. Средняя толщина БМ у пациентов с нормоальбинурией значимо превышала контроль (489 ± 94 и 338 ± 50 нм, $p = 0,01$). Различия с контролем у больных с микроальбинурией оказались более выраженными (646 ± 113 нм, $p = 0,00009$). Толщина клубочковой БМ положительно коррелировала с альбинурией ($r = 0,53$, $p = 0,005$) и с HbA_{1c} ($r = 0,53$, $p = 0,005$). В многофакторном анализе предикторами толщины клубочковой БМ оказались альбинурия, возраст и гликемия натощак ($R^2 = 0,73$).

При исследовании подоцитов у больных СД выявляли вакуолизацию и отек цитоплазмы, набухание органелл, уменьшение количества митохондрий, прикрепленных и свободных рибосом. У больных с микро- и макроальбинурией наблюдали утолщение и частичное слияние малых отростков подоцитов. Количество малых отростков, рассчитанное на 7 мкм тестовой площади, оказалось значимо пониженным в группе больных с микроальбинурией по сравнению с контролем ($9,2 \pm 1,7$ и $11,5 \pm 1,5$ соответственно, $p = 0,02$) и с пациентами с нормальной ЭАМ ($10,6 \pm 1,4$, $p = 0,05$). Установлена прямая корреляция между толщиной малых отростков и альбинурией ($r = 0,51$, $p = 0,02$). В многофакторном анализе независимыми предикторами толщины малых отростков оказались альбинурия и уровень гликемии натощак ($R^2 = 0,51$, $p = 0,005$).

При исследовании эндотелиоцитов капилляров отмечали набухание, фрагментацию и отшнуровку цитоплазмы этих клеток (клазматоз). Количество фенестр эндотелия оказалось сниженным в группе больных с микроальбинурией по сравнению с пациентами с нормальной ЭАМ и с контролем ($6,8 \pm 1,8$, $8,9 \pm 2,2$ и $9,9 \pm 0,7$ на 7 мкм тестовой площади соответственно; $p = 0,03$ и $p = 0,003$). Таким образом, уже на доклинических стадиях нефропатии у больных СД наблюдаются структурные изменения всех компонентов почечного фильтра: гломерулярной БМ, отростков подоцитов, клеток эндотелия капилляров клубочков.

Изменения мезангиальных клеток у больных СД включали в себя набухание и вакуолизацию цитоплазмы, появление в ней липидных включений. У больных с повышенной ЭАМ обнаруживали отек и накопление коллагеновых волокон в мезангиальном матриксе клубочков.

В цитоплазме эпителиоцитов проксимальных отделов нефронов у всех обследованных больных наблюдалось большое количество вакуолей, набухание митохондрий, расширение цистерн гранулярного и гладкого эндоплазматического ретикулума и комплекса Гольджи. У больных СД с микроальбинурией отмечали возрастание электронной плотности и размеров вторичных лизосом. Следовательно, начиная с самых ранних этапов, ДН развивается как процесс, включающий патологию всего нефрона.

Степень утолщения БМ канальцев была значимо большей у пациентов с микроальбинурией по сравнению с больными с нормальной ЭАМ ($p = 0,0001$). Толщина канальцевой БМ коррелировала с альбинурией ($r = 0,43$, $p = 0,05$) и HbA_{1c} ($r = 0,62$, $p = 0,01$).

Таким образом, выраженность ультраструктурных изменений в почках на допротеинурических стадиях ДН связана с альбуминурией и зависит от качества контроля гликемии, длительности СД и возраста больных.

Локализация минорных (тип IV и тип VI) и интерстициальных (тип I и тип III) коллагенов в почках. Типирование коллагенов выполнено у 21-го больного СД, в том числе у 10-ти с нормоальбуминурией (ЭАМ: 4,4–22 мг/сут, медиана 10 мг/сут), у 9-ти с микроальбуминурией (35–124 мг/сут, медиана 47,8 мг/сут) и у двух больных с протеинурией (0,68 и 0,8 г/сут).

Коллаген IV типа был обнаружен в мезангии и капсуле Боумена клубочков, клубочковой и канальцевой БМ у всех обследованных больных и у лиц контрольной группы. Интенсивность реакции в контроле варьировала от слабо положительной до положительной. Среди больных СД слабopоложительная реакция выявлена в 4-х случаях, положительная – в 13-ти, резко положительная – в 4-х. При этом у 8-ми больных СД отмечена диффузно-очаговая аккумуляция коллагена, чего не наблюдалось в контроле. Больные с аккумуляцией коллагена IV типа имели более высокий уровень гликемии ($p = 0,03$), более высокое среднесуточное САД и ДАД ($p = 0,04$ и $p = 0,03$). В канальцах коллаген IV типа выявлялся в составе БМ, интенсивность реакции была повышена у больных с микроальбуминурией.

Реакция на коллаген VI типа в контрольной группе варьировала от отрицательной ($n = 8$) до слабopоложительной ($n = 3$). Коллаген данного типа выявлялся в стенках капилляров и в мезангии клубочков, а также в БМ канальцев. Среди больных СД реакция на коллаген VI типа в клубочках оказалась отрицательной в шести случаях, слабopоложительной — в пяти и положительной — в десяти. Очаговый тип реакции на коллаген VI типа выявлен у четырех пациентов. В большинстве случаев (7 из 11) патологическая реакция на коллаген VI типа сочеталась с накоплением коллагена IV типа. У больных с накоплением коллагена VI типа зафиксирована тенденция к более высоким значениям гликемии натощак (медианы 8,7 и 11,1 ммоль/л соответственно, $p = 0,06$) и после еды (медианы 9 и 10,8 ммоль/л, $p = 0,12$). Реакция на коллаген VI типа в канальцах и интерстиции у больных СД варьировала от отрицательной (у 11-ти человек) до слабopоложительной (у 10-ти).

Коллаген I типа у лиц контрольной группы присутствовал лишь в интерстиции (слабopоложительная реакция). У большинства пациентов с СД (13 из 21-го) выявлены депозиты коллагена I типа в клубочках. Реакция оценена как слабopоложительная у двух человек, как положительная – у девяти и как резко положительная – у одного. Отложения коллагена I типа были наиболее выражены в стенках капилляров клубочков, в ряде случаев они обнаруживались в мезангии и в капсуле клубочков. Клинической особенностью больных с наличием коллагена I типа в клубочках оказалось раннее развитие АГ ($n = 9$), а также повышенная ЭАМ ($n = 9$). Избыточная аккумуляция коллагена I типа в интерстиции зафиксирована у одной больной с 12-летней длительностью СД, микроальбуминурией и отечным синдромом.

Коллаген III типа обнаружен в клубочках у 11-ти больных из 21-го. В шести случаях наблюдалась положительная реакция, в пяти – слабopоложительная. В контроле коллаген III типа присутствовал только в интерстиции. У больных с коллагеном III типа в клубочках зафиксированы более высокие цифры среднесуточного ДАД ($p = 0,02$). Среди лиц с депозитами коллагена III типа в

клубочках нормоальбуминурию имели 4 пациента, микроальбуминурию – 6, протеинурию – 1 (при отрицательной иммуногистохимической реакции названные уровни ЭАМ зарегистрированы в 6-ти, 4-х и одном случае соответственно). Появление в клубочках интерстициальных типов коллагена, образующих крупные фибриллы, свидетельствует о возникновении не только количественных, но и качественных аномалий синтеза коллагена при СД. В тубулоинтерстиции коллаген III типа был зафиксирован у 17-ти больных. В отличие от контрольной группы, у больных СД коллаген III типа выявлялся не только в интерстиции, но также в БМ канальцев.

Итак, формирование ДН у больных СД 1-го типа характеризуется аккумуляцией минорных коллагенов (IV и VI типа) и появлением интерстициальных коллагенов (I и III типа) в клубочках, а также накоплением коллагенов обеих групп (III, IV, VI и, реже, I типа) в тубуло-интерстиции. Это свидетельствует о глубокой дисфункции клеток клубочков и канальцев при СД. Накопление коллагеновых белков создает биохимическую основу для формирования гломерулярного и интерстициального склероза. Начальные этапы этого процесса протекают на начальных (допротеинурических) стадиях ДН. Степень накопления коллагенов на этих стадиях связана с альбуминурией и определяется качеством контроля углеводного обмена и уровнем АД.

Изменения обмена внеклеточного матрикса почек в формировании ДН

Маркеры обмена коллагена. У пациентов с нормоальбуминурией зафиксирована тенденция к повышению мочевой экскреции метаболитов коллагена: общего, пептидно-связанного и свободного гидроксипролина (табл. 4). У больных с микроальбуминурией выделение всех фракций гидроксипролина было повышено. У больных с протеинурией экскреция пептидно-связанного гидроксипролина оказалась еще более высокой, особенно у пациентов с ХПН ($7,73 \pm 4,79$ мг/ммоль). Экскреция свободного гидроксипролина у больных с выраженной ДН, напротив, оказалась ниже и достоверно не отличалась от контроля. По мере нарастания тяжести нефропатии наблюдалось снижение соотношения свободный/пептидно-связанный гидроксипролин, что является косвенным доказательством преобладания процессов синтеза коллагена над его распадом.

Назначение ингибитора АПФ фозиноприла (препарат «Моноприл» фирмы «Bristol-Myers Squibb») в дозе 2,5 – 10 мг/сут 24-м больным с начальными морфологическими изменениями в почках и/или микроальбуминурией сопровождалось существенным (в среднем в 2 раза) увеличением мочевой экскреции свободного гидроксипролина (исходно: $1,66 \pm 0,98$, через 6 месяцев: $3,21 \pm 2,07$ мг/ммоль креатинина, $p = 0,001$). Экскреция пептидно-связанного гидроксипролина увеличилась не значимо (с $4,21 \pm 2,01$ до $5,47 \pm 3,18$ мг/ммоль, $p = 0,06$). Усиление катаболизма коллагена под влиянием ингибитора АПФ может объясняться снижением образования ангиотензина II. Последний снижает активность коллагенолитических ферментов в почках (Singh R. et al., 1999; McLennan S. V. et al., 2002).

Таблица 4. Экскреция гидроксипролина с мочой (мг/ммоль креатинина) у больных СД 1-го типа с разной выраженностью ДН

Показатель	Группы обследованных			
	Контроль (n = 29)	1-я (n = 45)	2-я (n = 56)	3-я (n = 23)
Общий гидроксипролин	4,49 ± 2,16	5,52 ± 3,71	7,18 ± 3,47*	9,34 ± 5,61**
Пептидно-связанный гидроксипролин	3,37 ± 1,84	4,01 ± 2,79	5,37 ± 2,71*	7,81 ± 5,04**
Свободный гидроксипролин	1,12 ± 0,87	1,51 ± 1,29	1,81 ± 1,65*	1,53 ± 0,86

Примечание: * – статистически значимое различие с контролем ($p < 0,05$), ** – статистически значимое различие с контролем, 1-й и 2-й группой больных ($p < 0,05$).

Общая КЛА сыворотки крови была значительно (в среднем в 2,4 раза) повышена у больных СД по сравнению со здоровыми лицами ($25,7 \pm 18,1$ и $10,5 \pm 5,2$ мкмоль/л/ч, $p = 0,0001$). Значимое повышение КЛА обнаружено у больных с нормальной ЭАМ, наиболее высокие значения – у пациентов с микроальбуминурией (рис. 2). Зафиксирована прямая взаимосвязь между КЛА и уровнем постпрандиальной гликемии ($r = 0,4$, $p = 0,03$).

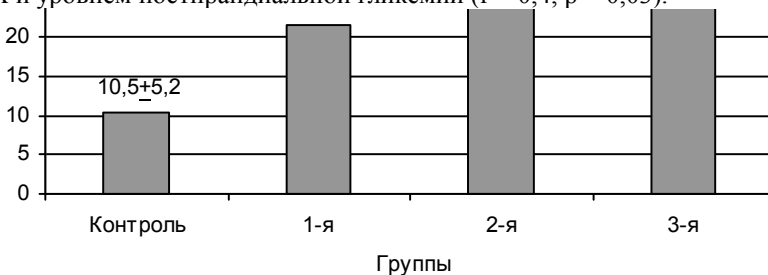


Рисунок 2. КЛА сыворотки крови (мкмоль/л/ч) у больных СД 1-го типа с разной выраженностью ДН

Примечание: * – статистически значимое различие с контролем ($p < 0,05$).

Маркеры обмена протеогликанов. Суммарная экскреция сульфатированных ГАГ с мочой у больных СД была значительно увеличена по сравнению с контролем ($5,94 \pm 2,72$ и $2,32 \pm 0,95$ мг/ммоль креатинина, $p = 0,0001$). Значимое увеличение содержания ГАГ выявлено у пациентов с нормальной ЭАМ, дальнейший рост экскреции наблюдался у больных с микро- и макроальбуминурией ($5,29 \pm 2,86$, $6,3 \pm 2,72$ и $6,6 \pm 2,01$ мг/ммоль соответственно, все $p < 0,05$). Выявлена положительная корреляционная взаимосвязь между экскрецией ГАГ и относительным объемом мезангия клубочков ($r = 0,39$, $p = 0,05$).

У здоровых людей основным компонентом ГАГ мочи являлся хондроитинсульфат (рис. 3). У 6-ти из 25-ти человек контрольной группы присутствовал также гепарансульфат в качестве минорной (дополнительной) фракции. Наличие микроальбуминурии было связано со значительным увеличением экскреции гепарансульфата: у 34-х человек (60,7 %) он являлся основной фракцией ГАГ. При выраженной ДН гепарансульфат был обнаружен в 15-ти случаях из 19-ти (78,9 %), у подавляющего большинства больных ($n = 14$, 73,7 %) – в качестве основной фракции. Поскольку гепарансульфат является основным полианионным компонентом БМ клубочков, увеличение его «потери» с мочой может способствовать повышению альбуминурии. У 10-ти больных с микроальбуминурией (17,9 %) и у 6 пациентов с макроальбуминурией (31,6 %) обнаружена гиперэкскреция дерматансульфата.

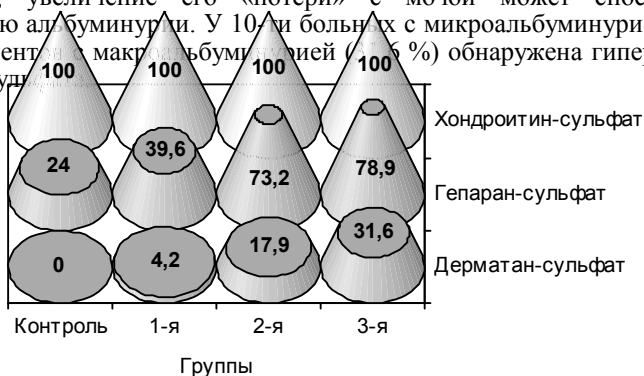


Рисунок 3. Частота (%) выявления различных фракций ГАГ в моче у здоровых лиц и у больных СД 1-го типа с разной выраженностью ДН

Суммарная экскреция сульфатированных ГАГ на фоне терапии фозиноприлом не изменилась (исходно: $5,34 \pm 2,29$, через 6 месяцев – $5,27 \pm 2,03$ мг/ммоль креатинина, $p = 0,28$). Вместе с тем зафиксировано уменьшение экскреции гепарансульфата у 16 (69,6%) человек. К концу исследования ни у одного больного гепарансульфат не являлся основной фракцией ГАГ. Таким образом, антиальбуминурический эффект ингибиторов АПФ при ДН может быть связан с уменьшением «потери» гепарансульфата.

Активность двух кислых лизосомальных гликозидаз, вовлеченных в катаболизм ГАГ: N-ацетил-β-D-глюкозаминидазы и β-галактозидазы, в сыворотке крови была наибольшей у больных с клинически явной ДН (1153 ± 328 и $1,83 \pm 0,2$ нмоль/мл/час соответственно). Оба фермента положительно коррелировали с суточной протеинурией и с экскрецией ГАГ (N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза: $r = 0,29$ в обоих случаях, β-галактозидаза: $r = 0,34$ и $r = 0,48$ соответственно, все $p < 0,05$).

Уровень фибронектина в сыворотке крови. Содержание фибронектина в сыворотке крови у больных СД оказалось ниже контрольного уровня (215 ± 134 и 358 ± 213 мкг/мл, $p < 0,001$) и значимо не различалось в группах пациентов с разными стадиями ДН. Не обнаружено связей между фибро-

нектином и протеинурией, функцией почек. Таким образом, содержание фибронектина в крови не является маркером диабетического нефросклероза.

Мочевая экскреция ТФР-β. Экскреция ТФР-β возрастала по мере увеличения выраженности нефропатии (таблица 5). У больных с микроальбуминурией экскреция была повышена в сравнении с контролем и с пациентами с нормоальбуминурией ($p = 0,003$ в обоих случаях). Значительное повышение экскреции выявлено у больных с протеинурией: медиана экскреции превышала контроль в 4 раза ($p = 0,0002$).

Таблица 5. Мочевая экскреция ТФР-β у больных СД 1-го типа с разной выраженностью ДН

Группа больных	Экскреция ТФР-β, пг/мкмоль креатинина		
	Медиана	25-й; 75-й процентиль	Диапазон (min-max)
1-я (n = 24)	2,00	1,24; 2,5	0,47–6,17
2-я (n = 20)	3,03	2,13; 5,08	0,80–7,82
3-я (n = 10)	6,27	3,95; 8,24	2,47–12,06

Экскреция ТФР-β прямо коррелировала с альбуминурией ($r = 0,57$, $p = 0,007$) и обратно – с СКФ ($r = -0,32$, $p = 0,02$). У больных с начальными стадиями ДН установлены прямые корреляции между ТФР-β и толщиной БМ клубочков ($r = 0,75$, $p = 0,0003$), БМ канальцев ($r = 0,73$, $p = 0,0004$) и шириной малых отростков подоцитов ($r = 0,62$, $p = 0,006$).

Содержание ТФР-β отрицательно коррелировало с соотношением свободный/пептидно-связанный гидроксипролин в моче ($r = -0,36$, $p = 0,05$), что подтверждает значимость гиперпродукции ТФР-β в активации синтеза и торможении распада коллагена в «диабетических» почках (Chen S. et al., 2003; Kobayashi T. et al., 2005). Обнаружена положительная корреляция между ТФР-β и уровнем гликированного гемоглобина ($r = 0,48$, $p = 0,02$).

Мочевая экскреция ИФР-1. Медиана экскреции ИФР-1 у больных СД превышала контроль в среднем в 1,7 раза: 3,68 (2,48–5,47) и 2,14 (1,98–2,91) пг/мкмоль ($p = 0,003$). Как видно из таблицы 6, экскреция ИФР-1 возрастала по мере увеличения выраженности ДН. У пациентов с нормоальбуминурией экскреция ИФР-1 не отличалась от контроля ($p = 0,25$). У больных с микроальбуминурией экскреция была умеренно повышена в сравнении со здоровыми лицами ($p = 0,004$) и с пациентами с нормальной ЭАМ ($p = 0,04$). Медиана экскреции ИФР-1 у больных с протеинурией превышала контроль в 3,6 раза ($p = 0,00008$) и была достоверно выше, чем у пациентов с нормальной ЭАМ ($p = 0,000005$) и микроальбуминурией ($p = 0,0006$). Наиболее высокие показатели зафиксированы в подгруппе больных с ХПН: 10,9 (6,04; 16,3) пг/мкмоль.

Концентрация ИФР-1 коррелировала с СКФ ($r = -0,43$, $p = 0,002$) и с протеинурией ($r = 0,39$, $p = 0,003$). У больных без протеинурии установлены корреляции между ИФР-1 и толщиной БМ клубочков ($r = 0,59$, $p = 0,02$), БМ канальцев ($r = 0,53$, $p = 0,04$), числом малых отростков подоцитов ($r = -0,69$, $p = 0,004$). Экскреция ИФР-1 коррелировала с HbA_{1c} ($r = 0,47$, $p = 0,001$), ТФР-β ($r = 0,76$, $p < 0,000001$), уровнем гемоглобина ($r = -0,41$, $p = 0,001$).

Таблица 6. Мочевая экскреция ИФР-1 у больных СД 1-го типа с разной выраженностью ДН

Группа больных	Экскреция ИФР-1, пг/мкмоль креатинина		
	Медиана	25-й; 75-й процентиль	Диапазон (min-max)
1-я (n = 22)	2,52	2,10; 3,22	1,07–5,62
2-я (n = 23)	3,68	2,95; 4,62	1,72–7,61
3-я (n = 12)	7,63	6,04; 13,04	4,02–22,9

Мочевая экскреция ФРЭС. Медиана экскреции ФРЭС у больных СД в 1,5 раза превышала контроль: 7,86 и 5,37 нг/мкмоль, 25-й и 75-й процентиля: 4,39; 14,48 и 3; 9,7 нг/мкмоль соответственно ($p = 0,1$). Прослеживалась тенденция к возрастанию экскреции ФРЭС по мере увеличения выраженности ДН (таблица 7). Экскреция ФРЭС у пациентов с микроальбуминурией была статистически значимо выше, чем у больных с нормальной ЭАМ ($p = 0,04$). Медиана экскреции ФРЭС в группе с протеинурией превышала контроль в 3,1 раза ($p = 0,02$) и была значимо выше, чем у пациентов с нормоальбуминурией ($p = 0,02$).

Установлены корреляции между экскрецией ФРЭС и объемом мезангия ($r = 0,69$, $p = 0,004$), толщиной БМ клубочков ($r = 0,53$, $p = 0,05$), количеством малых отростков подоцитов ($r = -0,48$, $p = 0,08$). Уровень ФРЭС был взаимосвязан с уровнем гликемии натощак ($r = 0,36$, $p = 0,005$) и коррелировал с ТФР- β ($r = 0,57$, $p = 0,000005$) и ИФР-1 ($r = 0,55$, $p = 0,00001$).

Таблица 7. Мочевая экскреция ФРЭС у больных СД 1-го типа с разной выраженностью ДН

Группа больных	Экскреция ФРЭС, нг/мкмоль креатинина		
	Медиана	25-й; 75-й процентиль	Диапазон (min-max)
1-я (n = 21)	6,49	4,39; 10,8	0,89–16,95
2-я (n = 24)	10,2	5,76; 19,9	1,02–466,65
3-я (n = 12)	16,67	6,98; 45,87	3,48–333,74

У 10 пациентов с микроальбуминурией изучена динамика мочевой экскреции ТФР- β и ФРЭС на фоне лечения фозиноприлом (2,5–10 мг/сут). Исходные значения экскреции факторов достоверно превышали контроль (ТФР- β : $p = 0,005$; ФРЭС: $p = 0,03$). Через 6 месяцев лечения экскреция приблизилась к контролю (ТФР- β : $p = 0,08$; ФРЭС: $p = 0,43$). По-видимому, это объясняется снижением продукции ангиотензина II, стимулирующего синтез ТФР- β и ФРЭС в почках (Ikehara K. et al., 2003; Kim N. H. et al., 2005).

Полученные данные свидетельствуют о тесной взаимосвязи между качеством гликемического контроля, гиперпродукцией ростовых факторов, изменением обмена компонентов внеклеточного матрикса и развитием ДН. Нарушения продукции факторов роста, коллагена и протеогликанов являются связующими звеньями между гипергликемией и нефросклерозом.

Изменения почечной гемодинамики на начальных стадиях ДН

Изменения фильтрационной функции почек. На основании современных рекомендаций по диагностике хронической болезни почек (K/DOQI Clinical Practice Guidelines, 2002), в зависимости от расчетной СКФ, больных разделили на 4 группы: 1) с нормофильтрацией (СКФ 90–139 мл/мин/1,73 м², n = 173); 2) с гиперфильтрацией (СКФ ≥ 140 мл/мин/1,73 м²; n = 34); 3) со снижением клубочковой фильтрации в диапазоне 60 – 89 мл/мин/1,73 м²; n = 73); 4) с выраженным снижением фильтрации (СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м², n = 23).

Как видно из таблицы 8, больные с гиперфильтрацией отличались от остальных пациентов наименьшим возрастом и небольшой длительностью СД (у 68 % пациентов она составляла менее 5 лет). У большинства больных (61 %) HbA_{1c} превышал 10 %. Частота микроальбуминурии и протеинурии не отличалась в группах больных с нормо- и гиперфильтрацией (p = 0,98 и p = 0,89).

Таблица 8. Характеристика больных СД 1-го типа в зависимости от состояния фильтрационной функции почек

Показатель	Расчетная СКФ, мл/мин/1,73 м ²			
	90 – 139 (n = 173)	≥ 140 (n = 34)	60 – 89 (n = 73)	< 60 (n = 23)
Возраст, годы	29,6 ± 10,2	26,0 ± 9,5*	32,5 ± 10,4*	37,2 ± 11,0*
Длительность СД, годы	6 (3; 10)	5 (3; 7)*	12 (5; 16)*	17 (15; 20)**
Масса тела, кг	65,4 ± 9,4	68,4 ± 11,7*	59,8 ± 11,1*	58,7 ± 7,3*
САД, мм рт. ст.	122,4 ± 18,7	125,3 ± 13,1	131,1 ± 24,1*	158,9 ± 27,7**
ДАД, мм рт. ст.	78,3 ± 10,5	79,8 ± 9,5	82,3 ± 11,5*	91,5 ± 11,7**
Доза инсулина, ЕД/кг/сут	0,67 ± 0,18	0,64 ± 0,18	0,67 ± 0,17	0,61 ± 0,14
Гликемия натощак, ммоль/л	10,0 ± 3,4	11,1 ± 3,5	9,5 ± 3,4	10,6 ± 3,7
Гликемия через 2 ч после еды, ммоль/л	10,2 ± 3,8	11,1 ± 3,7	10,2 ± 3,7	11,2 ± 3,4
HbA _{1c} , %	9,8 ± 2,8	11,3 ± 2,5*	9,7 ± 0,7	9,6 ± 2,4
Протеинурия, г/сут	0,19 ± 0,32	0,19 ± 0,32	0,88 ± 0,51*	4,4 ± 4,6**
Креатинин крови, мкмоль/л	75,6 ± 13,6	56,4 ± 9,5*	90,8 ± 18,4*	245 ± 157,2**
Расчетная СКФ, мл/мин/1,73 м ²	108,6 ± 12,8	158,4 ± 20,0*	79,6 ± 10,5*	36,7 ± 17,4**
Гемоглобин, г/л	139,2 ± 17,0	143,7 ± 14,2	127,3 ± 17,2*	104,6 ± 17,7**
Эритроциты, ×10 ¹² /л	4,6 ± 0,5	4,7 ± 0,5	4,4 ± 0,5*	3,6 ± 0,5**

Примечание: * – статистически значимое различие с группой больных с нормофильтрацией (p < 0,05); ** – статистически значимое различие с группами больных с нормофильтрацией и с СКФ 60 – 89 мл/мин/1,73 м² (p < 0,05).

Отличительной особенностью пациентов с СКФ 60 – 89 мл/мин/1,73 м², сохраняющих нормоальбинурию, оказалась низкая масса тела, которая была в среднем на 9,8 кг меньше, чем в группе больных с нормоальбинурией и нормальной СКФ ($p = 0,00003$) и на 12,5 кг меньше, чем в группе больных с нормоальбинурией и гиперфилтрацией ($p = 0,002$). Больные с СКФ 60 – 89 мл/мин/1,73 м² и микроальбинурией были старше, имели большую длительность СД, меньшую массу тела и статистически незначимо более высокое АД в сравнении с пациентами с микроальбинурией и нормо- и гиперфилтрацией.

Больные с СКФ < 60 мл/мин/1,73 м² были старше, имели наибольшую длительность СД, самый высокий уровень АД, протеинурии, наиболее низкие показатели гемоглобина и эритроцитов. Частота АГ в данной группе составила 100 %, анемии – 70 %, нефротического синдрома – 35 %.

По данным регрессионного анализа ($R^2 = 0,53$, $p < 0,000001$), снижению СКФ способствовало увеличение возраста и длительности заболевания, протеинурия, анемия, повышение АД и снижение массы тела. Гликированный гемоглобин оказался положительно связан с СКФ, что, вероятно, объясняется стимулирующим влиянием гипергликемии на развитие гиперфилтрации на ранних стадиях ДН.

Не выявлено взаимосвязи между нарушениями фильтрационной функции почек и объемом мезангия клубочков, толщиной БМ и изменениями подоцитов у больных с начальными стадиями ДН. Все указанные параметры оказались в большей степени связаны с альбинурией, нежели с СКФ.

Истощение или отсутствие ФПР выявлено у пяти из двенадцати пациентов с нормальной ЭАМ, у 10-ти из 12-ти пациентов с микроальбинурией и у трех больных с протеинурией. Медиана прироста СКФ после нагрузки белком у пациентов с нормоальбинурией составила 28,1 %, у больных с повышенной ЭАМ – –23,3 %. Эти данные свидетельствуют о том, что у большинства пациентов с ДН все функционирующие клубочки работают в режиме внутрисклубочковой гиперфилтрации и гипертензии.

Изменения внутрисклубочкового кровотока. По данным УЗДГ, у больных СД с небольшой давностью заболевания (менее пяти лет) и нормоальбинурией наблюдалась высокая скорость кровотока по почечным артериям и их внутрисклубочным ветвям на фоне снижения показателей резистентности сосудов. У больных с микро- и макроальбинурией фиксировалась тенденция к снижению скорости кровотока на уровне сегментарных, дуговых и междолевых ветвей (таблица 9).

У больных с протеинурией зафиксировано повышение индексов резистентности на всех уровнях почечных артерий. Наиболее выраженные изменения индексов выявлялись на уровне ворот почек, сегментарных и дуговых артерий (правая почка: $0,69 \pm 0,1$, $0,72 \pm 0,11$ и $0,67 \pm 0,08$; левая почка: $0,73 \pm 0,09$, $0,7 \pm 0,1$ и $0,67 \pm 0,11$ соответственно). При корреляционном анализе выявлены положительные связи между индексами резистентности на разных уровнях почечных артерий и возрастом, длительностью СД, САД, уровнем мочевины и суточной протеинурией. Обратные корреляции обнаружены между индексами резистентности сегментарных и междолевых артерий и СКФ.

Таблица 9. Скорость кровотока по ветвям почечной артерии (м/с) у больных СД 1-го типа с разной выраженностью ДН

Сосуд	Группы больных		
	1-я (n = 16)	2-я (n = 13)	3-я (n = 8)
Правая почка			
Устье почечной артерии	0,82 ± 0,17	0,73 ± 0,22	0,69 ± 0,07*
Ворота почки	0,69 ± 0,17	0,57 ± 0,19	0,67 ± 0,12
Сегментарные артерии	0,47 ± 0,14	0,35 ± 0,17*	0,44 ± 0,22
Междольевые артерии	0,32 ± 0,13	0,30 ± 0,11	0,27 ± 0,08
Дуговые артерии	0,22 ± 0,09	0,19 ± 0,08	0,19 ± 0,12
Левая почка			
Устье почечной артерии	0,73 ± 0,26	0,68 ± 0,19	0,69 ± 0,31
Ворота почки	0,70 ± 0,21	0,58 ± 0,21	0,67 ± 0,19
Сегментарные артерии	0,47 ± 0,15	0,37 ± 0,17	0,36 ± 0,15*
Междольевые артерии	0,33 ± 0,11	0,29 ± 0,11	0,23 ± 0,06*
Дуговые артерии	0,22 ± 0,08	0,18 ± 0,06	0,18 ± 0,05

Примечание: * – статистически значимое различие с 1-й группой больных ($p < 0,05$).

Таким образом, исследование внутрпочечного кровотока с помощью УЗДГ может использоваться для оценки гемодинамических изменений в почках при СД.

Хроническое воспаление в развитии ДН

Фибриногенемия. Уровень фибриногена в крови был повышен у больных с протеинурией по сравнению с пациентами с нормальной ЭАМ и микроальбуминурией (4847 ± 1520 , 3336 ± 760 и 3404 ± 829 мг/л, $p < 0,000001$ и $p = 0,000001$). Содержание фибриногена коррелировало с суточной протеинурией ($r = 0,54$, $p < 0,0000001$) и СКФ ($r = -0,45$, $p = 0,000006$). Степень изменений в почках на начальных стадиях нефропатии содержание фибриногена не отражало.

sICAM-1 в сыворотке крови. Средний уровень sICAM-1 у больных СД оказался значимо выше контроля ($347,2 \pm 126,1$ и $268,3 \pm 63,2$ нг/мл, $p = 0,02$). Прослеживалась тенденция к увеличению содержания sICAM-1 по мере увеличения выраженности нефропатии (рис. 4). У больных с начальными стадиями ДН установлены корреляции между концентрацией sICAM-1 и толщиной клубочковой и канальцевой БМ ($r = 0,64$, $p = 0,01$ и $r = 0,59$, $p = 0,03$), шириной малых отростков подоцитов ($r = 0,59$, $p = 0,03$). Уровень sICAM-1 коррелировал с гликемией натощак ($r = 0,31$, $p = 0,01$) и после еды ($r = 0,3$, $p = 0,02$). Содержание sICAM-1 не коррелировало с «традиционными» показателями воспаления (лейкоцитоз, СОЭ, фибриноген). Очевидно, данный параметр имеет самостоятельное диагностическое значение и может использоваться для оценки выраженности хронического сосудистого воспаления при СД.

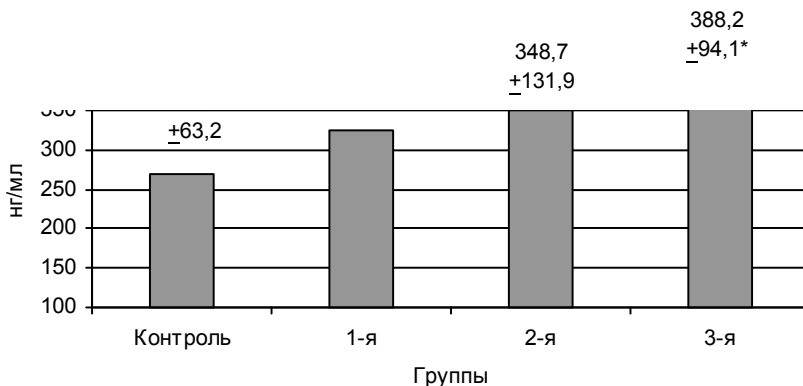


Рисунок 4. Содержание sICAM-1 в сыворотке крови у больных СД 1-го типа с разной выраженностью ДН

Примечание: * – статистически значимое различие с контролем ($p = 0,003$). Различия между группами больных недостоверны ($p > 0,05$).

Экспрессия ICAM-1 в почках. Типирование ICAM-1 в препаратах почек выполнено у 15-ти больных (7 с нормоальбуминурией, 7 с микроальбуминурией, 1 с протеинурией 0,8 г/сут). Присутствие ICAM-1 в клубочках выявлено у семи пациентов. Реакция во всех случаях была слабоположительной, ICAM-1 выявлялись в отдельных клубочках на периферии капиллярных петель. Наиболее часто присутствие ICAM-1 обнаруживалось в канальцах ($n = 13$). В восьми случаях реакция оказалась положительной (отчетливое окрашивание всех канальцев в препарате), в пяти — слабоположительной (частичное окрашивание отдельных канальцев). В препаратах контрольной группы ICAM-1 не выявлялись.

Большинство пациентов с положительной реакцией на ICAM-1 в клубочках имели повышенную ЭАМ: у четырех выявлена микроальбуминурия, у одной больной – протеинурия. У больных с положительной реакцией на молекулы адгезии фиксировались более высокие цифры «мониторного» САД, ДАД и показатели гликемии натощак по сравнению с пациентами с отрицательной реакцией (все $p < 0,05$). Концентрация sICAM-1 в крови была значимо выше у пациентов с клубочковой экспрессией ICAM-1: 388 (268–536) и 261 (153–343) нг/мл, $p = 0,01$. Интенсивность реакции на ICAM-1 в канальцах также оказалась связанной с альбуминурией, показателями АД и гликемией.

Итак, развитие нефропатии у больных СД 1-го типа сопровождается увеличением синтеза молекул адгезии ICAM-1 в канальцах и, реже, в клубочках почек. Экспрессия ICAM-1 может играть важную роль в развитии нефросклероза, способствуя миграции воспалительных клеток в клубочки и интерстиций (Sugimoto H. et al., 1997; Chow F. Y. et al., 2005).

Мочевая экскреция цитокинов IL-1 β , MCP-1 и RANTES. IL-1 β – провоспалительный цитокин с широким спектром биологических функций. Проведенные исследования показали возрастание мочевой экскреции IL-1 β у больных СД по мере увеличения выраженности ДН (рис. 5 а). У больных с

микроальбуминурией содержание IL-1 β в моче превышало контроль в среднем в 2,6 раза ($p = 0,02$), у больных с клинически явной ДН – в 5,5 раза ($p < 0,000001$). Очевидно, увеличение экскреции IL-1 β отражает увеличение почечной продукции данного медиатора.



Рисунок 5. Мочевая экскреция цитокинов: IL-1 β (а), MCP-1 (б) и RANTES (в) у больных СД 1-го типа с разной выраженностью ДН

Примечания: данные представлены как медианы, 25-е и 75-е процентиля (столбики); К — контроль; * – статистически значимое различие ($p < 0,05$) с контролем; ** – статистически значимое различие ($p < 0,05$) с контролем и 1-й группой; *** – статистически значимое различие ($p < 0,05$) с контролем, 1-й и 2-й группой. Экскреция выражена в пг/мкмоль креатинина.

Экскреция IL-1 β коррелировала с суточной протеинурией ($r = 0,5$, $p = 0,00007$), СКФ ($r = -0,42$, $p = 0,002$) и ДАД ($r = 0,34$, $p = 0,01$). У больных с начальными стадиями ДН обнаружены тесные корреляции между содержанием цитокина и толщиной БМ клубочков ($r = 0,69$, $p = 0,006$), БМ канальцев ($r = 0,73$, $p = 0,002$), количеством фенестр эндотелия ($r = -0,85$, $p = 0,00007$). Концентрация IL-1 β положительно коррелировала с ТФР- β ($r = 0,68$, $p < 0,000001$), ИФР-1 ($r = 0,64$, $p < 0,000001$) и ФРЭС ($r = 0,32$, $p = 0,009$). Очевидно, гиперэкскреция IL-1 β при СД связана с процессами, ведущими к накоплению коллагена и других компонентов матрикса в почках. Это соответствует данным о фиброгенных эффектах IL-1 β в почках (Fan J. M., 2001; Vesey D. A. et al., 2002). Не менее важны провоспалительные эффекты IL-1 β , связанные с запуском синтеза молекул адгезии, а также хемокинов (Mantovani A. et al., 1997).

Экскреция MCP-1 у больных СД оказалась в среднем в 3,8 раза выше, чем в контроле: 19,4 (6,6; 41,6) и 5,1 (1,4; 16,8) пг/мкмоль креатинина соответственно ($p = 0,005$). Прослеживалась тенденция к возрастанию экскреции MCP-1 по мере увеличения выраженности нефропатии (рис. 5 б). Наиболее высокие показатели зафиксированы у больных с протеинурией: медиана MCP-1 в данной группе в 12,6 раза превышала контроль. При

ранговом корреляционном анализе выявлены положительные взаимосвязи между экскрецией MCP-1 и уровнем креатинина ($r = 0,43$, $p = 0,002$), величиной СКФ ($r = -0,32$, $p = 0,03$). Обнаружены взаимосвязи между MCP-1 и числом малых отростков подоцитов ($r = -0,48$, $p = 0,09$), количеством фенестр эндотелия ($r = -0,44$, $p = 0,11$), толщиной канальцевой БМ ($r = 0,47$, $p = 0,09$).

У 10-ти больных с микроальбуминурией экскреция MCP-1 исследована до назначения фозиноприла и через 6 месяцев лечения. Зафиксировано снижение экскреции хемокина с 11,8 (2,4 – 60,4) до 9,9 (1,5 – 38,4) пг/мкмоль креатинина ($p = 0,03$). Исходно повышенная экскреция MCP-1 спустя 6 месяцев терапии достоверно не отличалась от контроля ($p = 0,33$).

Экскреция RANTES у больных СД варьировала от крайне низких значений, не превышающих порога чувствительности метода, до 1,11 пг/мкмоль креатинина (медиана 0,04; 25-й и 75-й процентиль – 0 и 0,23 пг/мкмоль). У большинства лиц контрольной группы (6 из 10) экскреция RANTES была неопределяемой, у остальных значения варьировали от 0,03 до 0,08 пг/мкмоль. Таким образом, медиана и 25-й процентиль в контроле оказались равны нулю, а 75-й процентиль – 0,06 пг/мкмоль.

Наибольшее повышение экскреции хемокина обнаружено при выраженной ДН (рис. 5 в). Экскреция RANTES была связана с показателями азотвыделительной функции почек: креатинином ($r = 0,38$, $p = 0,005$) и мочевиной крови ($r = 0,31$, $p = 0,02$). Установлены корреляции между содержанием хемокина и толщиной БМ клубочков ($r = 0,43$, $p = 0,07$) и канальцев ($r = 0,53$, $p = 0,04$).

Полученные данные свидетельствуют о взаимосвязи между развитием ДН и увеличением мочевой экскреции цитокинов, что согласуется с результатами работ, зафиксировавших активацию синтеза IL-1 β и хемокинов в почках при СД (Mezzano S. et al., 2003, 2004; Sassy-Prigent C. et al., 2000; Lee F. T. et al., 2004; Hartner A. et al., 2005; Chow F. Y. et al., 2006). Определение мочевой экскреции цитокинов можно использовать в качестве неинвазивного теста для ранней диагностики и мониторинга течения ДН.

Гипергликемия является наиболее вероятным пусковым фактором в активации синтеза цитокинов при СД. Проведенные исследования показали взаимосвязь между экскрецией IL-1 β , MCP-1 и HbA_{1c} (IL-1 β : $r = 0,32$, $p = 0,03$; MCP-1: $r = 0,45$, $p = 0,002$). Это соответствует результатам экспериментов, показавших активацию синтеза цитокинов в почечных клетках в условиях избытка глюкозы (Banba N. et al., 2000; Janssen U. et al., 2002).

Высокий уровень экскреции цитокинов, зафиксированный у больных с клинически явной ДН, можно объяснить стимулирующим эффектом протеинурии на продукцию цитокинов в канальцах (Burton C. J. et al. 1999). Другим вероятным индуктором цитокинов у больных с выраженной ДН является нефрогенная (эритропоэтин-зависимая) анемия. Последняя приводит к хронической гипоксии почек, которая также увеличивает продукцию цитокинов (Marisa C et al., 2005). С этой гипотезой согласуется взаимосвязь между уровнем гемоглобина и экскрецией цитокинов с мочой (IL-1 β : $r = -0,38$, $p = 0,004$; MCP-1: $r = -0,42$, $p = 0,002$; RANTES: $r = -0,44$, $p = 0,0007$).

Очевидно, активация цитокинового каскада в почках осуществляется в тесной кооперации с гиперпродукцией факторов роста. Об этом

свидетельствуют взаимосвязи между содержанием в моче цитокинов (IL-1 β , MCP-1 и RANTES) и ростовых факторов (ТФР- β , ИФР-1, ФРЭС). В почечных клетках цитокины и факторы роста могут оказывать стимулирующее влияние на синтез друг друга (Cheng J. et al., 2005; Qi W. et al., 2006). Резкая активация продукции факторов роста и цитокинов, очевидно, определяет быстрое прогрессирование нефросклероза у больных СД с протеинурией.

CD68-позитивные клетки в почках. Роль хемокинов в развитии ДН связана с усилением синтеза молекул адгезии в резидентных почечных клетках (Giunti S. et al., 2006) и созданием условий для привлечения в клубочки и интерстиций мононуклеаров (Chow F. Y. et al., 2006).

Иммуногистохимическое типирование с помощью моноклональных антител к антигену CD68 (маркер моноцитов/макрофагов) проведено у трех больных с нормальной ЭАМ, у восьми с микроальбуминурией и у одной больной с протеинурией 0,8 г/сут.

У семи пациентов зафиксировано появление CD68-позитивных мононуклеаров в интерстиции почек. Полученные данные согласуются с результатами экспериментов на животных с СД (Chow F. Y. et al., 2005, 2006; Kelly D. J. et al., 2005; Biswas S. K. et al., 2006; Qi X. M. et al., 2006). Выраженная мононуклеарная инфильтрация почек, зафиксированная некоторыми исследователями у пациентов с клинически явной ДН (Wada T. et al., 2000; Mezzano S. et al., 2004), не встретилась ни в одном случае. Инфильтрация клубочков также не была зафиксирована. Вероятно, эти явления развиваются на поздних стадиях нефросклероза.

Повышенная ЭАМ зафиксирована у шести из семи больных с мононуклеарами в интерстиции (у пяти – микроальбуминурия, у одной больной – протеинурия). Среди больных с отрицательной реакцией нормальная ЭАМ выявлена у двух пациентов, микроальбуминурия зафиксирована у трех. Наличие CD68-позитивных мононуклеаров в интерстиции было ассоциировано с большей длительностью СД (минимальная длительность составила 1,5 года) и с более высоким (в среднем на 3 %) уровнем HbA_{1c}.

Известно, что мигрирующие в почечный интерстиций макрофаги могут играть важную роль в формировании тубулоинтерстициального фиброза благодаря тому, что служат источником фиброгенных факторов роста: ТФР- β , фактора роста фибробластов, тромбоцитарного фактора роста и др. (Segeer S., Alpers C. E., 2003; Eddy A. A., 2004). Кроме того, они вырабатывают большое количество IL-1 β и хемокинов (Chow F. Y. et al., 2004).

При типировании моноцитов/макрофагов с помощью антител к CD68 зафиксировано появление этого антигена в клетках клубочков (в частности, в подоцитах) у трех пациентов и усиление синтеза CD68 в эпителиоцитах канальцев у девяти больных. Очевидно, эта находка отражает процесс определенной дедифференцировки клубочковых и канальцевых клеток, в ходе которого они приобретают или усиливают экспрессию макрофагальных эпителиев (CD68).

Таким образом, в формировании ДН у больных СД 1-го типа принимает участие хроническое низкоинтенсивное воспаление. Воспалительные механизмы при ДН являются вторичными по отношению к нарушениям

метаболизма. Тем не менее, они могут вносить вклад в развитие нефросклероза.

Факторы риска раннего развития нефропатии при СД 1-го типа

С целью выявления и ранжирования факторов риска раннего развития нефропатии у больных СД 1-го типа были выделены и проанализированы группы больных с быстрым и медленным развитием данного осложнения (дизайн «случай – контроль»).

В первую группу «случай» вошли 48 пациентов с ранним (при длительности СД до пяти лет) развитием микроальбуминурии. Группу «контроль» составили 49 человек, у которых сохранялась нормальная ЭАМ при длительности СД более пяти лет. Во вторую группу «случай» включены пациенты ($n = 21$), у которых протеинурия появилась при длительности СД менее 10 лет. В группу «контроль» вошли 37 больных, у которых протеинурия отсутствовала при длительности СД более 10 лет.

Больные с ранним развитием микроальбуминурии значительно отличались от пациентов группы «контроль» началом заболевания в более позднем возрасте (чаще после 15 лет), худшими показателями углеводного обмена (гликемия натощак и после еды, глюкозурия, HbA_{1c}), более высоким уровнем холестерина и триглицеридов крови, а также более высоким среднесуточным ДАД и расчетной СКФ. Анализ таблиц сопряженности с использованием двустороннего точного критерия Фишера показал статистически значимое влияние высокого уровня гликированного гемоглобина ($> 8\%$), диастолической АГ и клубочковой гиперфилтрации ($СКФ \geq 140$ мл/мин/1,73 м²) на развитие микроальбуминурии (отношение шансов: 5, 5 и 7,5 соответственно). Раннее развитие микроальбуминурии не было связано с полом пациентов, развитием комы или кетоацидоза в дебюте заболевания, наличием дислипидемии, анемии, ретинопатии, автономной нейропатии, пиелонефрита и курением. Влияние HbA_{1c} и гипер-филтрации на развитие микроальбуминурии нашло подтверждение в модели многофакторного регрессионного логистического анализа. Отношение шансов составило: $HbA_{1c} > 8\%$ – 4,3 ($p = 0,009$), гиперфилтрация – 6,8 ($p = 0,007$). Влияние АГ оказалось статистически не значимым (отношение шансов 2,0, $p = 0,6$).

Больные СД с ранним развитием протеинурии отличались от пациентов с длительным СД без протеинурии более высокими показателями общего холестерина и триглицеридов, а также более высокими цифрами среднесуточного САД и ДАД. HbA_{1c} оказался статистически незначимо выше у больных с протеинурией ($p = 0,09$). При анализе таблиц сопряженности установлено, что риск раннего развития протеинурии у больных СД 1-го типа увеличивают: гиперхолестеринемия ($\geq 4,8$ ммоль/л), гипертриглицеридемия ($\geq 1,7$ ммоль/л), повышение САД и, возможно, ДАД (влияние последнего фактора не достигло статистической значимости: $p = 0,08$). При включении выделенных факторов риска в модель многофакторного логистического анализа подтверждено, что раннему развитию протеинурии способствуют гиперхолестеринемия (отношение шансов 5,2, $p = 0,04$) и гипертриглицеридемия (отношение шансов 13,5, $p = 0,04$). Влияние АГ в данном виде анализа оказалось статистически не значимым (отношение шансов 2,0, $p = 0,32$).

Установлено, что раннее развитие микроальбуминурии и протеинурии у больных СД 1-го типа ассоциировано с активацией метаболизма коллагена и протеогликанов, повышенной «потерей» гепарансульфата с мочой, более высокой активностью лизосомальных гликозидаз в крови и повышением карбонильной модификации белков. У пациентов с быстрым развитием микроальбуминурии и протеинурии выявлена более высокая экскреция с мочой профиброгенных факторов роста: ТФР-β и ИФР-1. Содержание воспалительных медиаторов (IL-1β, MCP-1, RANTES, sICAM-1) показало тенденцию к возрастанию у больных с быстрым развитием ДН.

Полученные данные позволяют считать, что профилактика ДН должна носить комплексный характер и включать тщательный контроль гликемии, дислипидемии, системной и внутриклубочковой гипертензии, коррекцию окислительного стресса, метаболизма внеклеточного матрикса и хронического воспаления в почках.

ВЫВОДЫ

1. Формирование начальных этапов нефропатии у больных СД 1-го типа с нормальной экскрецией альбумина с мочой и микроальбуминурией определяется индуцируемыми гипергликемией изменениями дифференцировки и синтетической функции клеток почечных клубочков и канальцев, которые приводят к нарушению обмена компонентов внеклеточного матрикса и развитию хронического низкоинтенсивного воспаления в почках.

2. Развитие и прогрессирование нефропатии у больных СД 1-го типа ассоциировано с высокой частотой диастолической или систоло-диастолической АГ, уменьшением степени ночного снижения АД, кардиоваскулярной автономной нейропатией, снижением вариабельности ритма сердца, ГЛЖ, диастолической дисфункцией сердца, анемией, дислипидемией, гипергомоцистеинемией, активацией свободно-радикального окисления белков.

3. Структурными изменениями в почках, связанными с развитием микроальбуминурии у больных СД 1-го типа, являются: увеличение объема мезангия клубочков, перигломерулярный склероз, утолщение и нарушение структуры базальных мембран, уменьшение процента подоцитов в клубочках, утолщение и ретракция малых отростков подоцитов, уменьшение числа фенестр эндотелия клубочковых капилляров, атрофия эпителиоцитов канальцев, склероз интерстиция, артерий и артериол.

4. Развитие диабетического нефросклероза характеризуется аккумуляцией минорных (IV и VI тип) и интерстициальных (I и III тип) коллагенов в клубочках, накоплением коллагена III, IV типа и, в меньшей степени, коллагена I и VI типа в базальных мембранах канальцев и в интерстиции почек.

5. Нарушения метаболизма внеклеточного матрикса при диабетической нефропатии проявляются увеличением мочевой экскреции метаболитов коллагена (пептидно-связанного, свободного гидроксипролина), сульфатированных ГАГ (гепарансульфата и, реже, дерматансульфата), фиброгенных факторов роста (ТФР-β, ИФР-1, ФРЭС), повышением

активности коллагенолитических ферментов и лизосомальных гликозидаз в крови.

6. Развитие клубочковой гиперfiltrации на ранних этапах развития диабетической нефропатии находится в прямой зависимости от выраженности гипергликемии; последующему снижению скорости filtration способствуют увеличение возраста, длительности диабета, нарастание протеинурии и анемии, повышение АД, снижение массы тела, увеличение резистивных свойств почечных артерий и их ветвей (сегментарных, междольевых, дуговых).

7. Хроническое низкоинтенсивное воспаление в почках у больных СД 1-го типа проявляется возрастанием экспрессии молекул межклеточной адгезии (ICAM-1) в клубочках и канальцах, миграцией моноцитов/макрофагов в интерстиций, увеличением мочевой экскреции воспалительных цитокинов (IL-1 β , MCP-1, RANTES), ростом содержания sICAM-1 и фибриногена в крови; развитию воспаления способствуют гипергликемия, факторы роста (прежде всего TФР- β), АГ, протеинурия, анемия.

8. Быстрому (в первые 10 лет болезни) развитию нефропатии у больных СД 1-го типа способствуют начало диабета в постпубертатном возрасте, неудовлетворительный контроль гликемии, раннее развитие АГ, клубочковая гиперfiltrация, дислипидемия, окислительный стресс, повышенная продукция фиброгенных факторов роста и провоспалительных цитокинов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Профилактика диабетической нефропатии должна включать интенсивный контроль гликемии, системной и клубочковой гипертензии, дислипидемии, окислительного стресса и хронического воспаления в почках.

2. Рекомендуется начинать скрининг нефропатии (исследование экскреции альбумина с мочой) у больных СД 1-го типа с момента постановки диагноза вне зависимости от возраста дебюта заболевания.

3. Больным СД с микро- и макроальбуминурией рекомендуется проводить суточное мониторирование АД для верификации артериальной гипертензии, определения суточного профиля АД, оценки эффективности антигипертензивной терапии.

4. Рекомендуется включать в комплекс обследования больных с диабетической нефропатией эхокардиографию и доплерэхокардиографию для диагностики ГЛЖ, систолической и диастолической дисфункции сердца.

5. При наличии показаний к пункционной биопсии почек у больных СД 1-го типа рекомендуется дополнять светооптическое исследование нефробипатов иммуногистохимическим типированием коллагенов I, III, IV и VI типа для оценки выраженности нефросклероза.

6. Рекомендуется исследовать мочевую экскрецию фракций гидроксипролина, сульфатированных гликозаминогликанов, фиброгенных факторов роста (TФР- β , ИФР-1) с целью ранней неинвазивной диагностики диабетической нефропатии и мониторингования процесса фиброгенеза в почках.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Поршенников И. А. Окислительная модификация белков при диабетических микроангиопатиях // Сахарный диабет. – 2000. – № 3. – С. 9–11.
2. Сидорова Л. Д., Бондарь И. А., Климонтов В. В., Пупышев А. Б., Поршенников И. А. Окислительный стресс при сахарном диабете и его коррекция тиоктовой кислотой // Бюллетень Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук. – 2000. – № 1 (95). – С. 94–98.
3. Klimontov V., Bondar I., Paul G., Pupyshev A. Serum activity of lysosomal enzymes and urinary glycosaminoglycan excretion in diabetic nephropathy // Diabetologia. – 2001. – Vol. 44, Suppl. 1. – P. A269.
4. Bondar I., Klimontov V., Pupyshev A., Porshennikov I. Effects of α -lipoic acid on lipid and protein oxidative damage and lysosomal enzyme activity in type 1 diabetes // Diabetologia. – 2001. – Vol. 44, Suppl. 1. – P. A320.
5. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Антиоксиданты в лечении и профилактике сахарного диабета // Сахарный диабет. – 2001. – № 1. – С. 47–51.
6. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Пауль Г. А., Амбросова С. М., Короленко Т. А. Экскреция сульфатированных гликозаминогликанов с мочой у больных с диабетической нефропатией // Проблемы эндокринологии. – 2001. – № 4. – С. 35–38.
7. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Пупышев А. Б., Поршенников И. А. Диагностика и коррекция окислительного стресса у больных с поздними осложнениями сахарного диабета // Актуальные проблемы современной эндокринологии: материалы IV всерос. конгр. эндокринологов. – СПб., 2001. – С. 31.
8. Климонтов В. В., Бондарь И. А., Пауль Г. А., Амбросова С. М. Обмен сульфатированных гликозаминогликанов у больных с диабетической нефропатией // Актуальные проблемы современной эндокринологии: материалы IV всерос. конгр. эндокринологов. – СПб., 2001. – С. 94.
9. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Королева Е. А., Климентьева Е. И., Одинцова В. И. Кардиоинтервалография в оценке состояния вегетативной нервной системы у больных сахарным диабетом // Инновации в охране здоровья людей: тез. докл. научн.-практ. конф. – Новосибирск, 2001. – С. 20–21.
10. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Королева Е. А., Иванова И. А., Одинцова В. И. Ранняя диагностика кардиальной автономной нейропатии у больных сахарным диабетом // Традиции Российской кардиологии и современные технологии в кардиологии XIX века: тез. докл. 4-го рос. научного форума. – М., 2002. – С. 40.
11. Бондарь И. А., Пилипенко П. И., Климонтов В. В., Вострикова Е. В. Эффективность Тиоктацида при диабетической полинейропатии // Человек и лекарство: тез. докл. IX рос. нац. конгр. – М., 2002. – С. 63.
12. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Пупышев А. Б., Поршенников И. А. Антиоксидантная и мембраностабилизирующая активность Тиоктацида у больных сахарным диабетом. // Человек и лекарство: тез. докл. IX рос. нац. конгр. – М., 2002. – С. 63.

13. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Пауль Г. А., Пупышев А. Б., Амбросова С. М. Обмен гликозаминогликанов и активность лизосомальных ферментов у больных с диабетической нефропатией // Сахарный диабет. – 2002. – № 1. – С. 46–49.

14. Klimontov V. V., Bondar I. A., Korolyova E. A. 24-h blood pressure, autonomic function and renal hemodynamic changes in normo- and microalbuminuric Type 1 diabetic patients // Diabetologia. – 2002. – Vol. 45, Suppl. 2. – P. A361.

15. Bondar I. A., Klimontov V. V., Korolyova E. A. Autonomic neuropathy in diabetes: early detection and the role in development of microvascular complications / Materials of the 6th Russian-Korean International Symposium on Science and Technology «Korus-2002». – Novosibirsk, 2002. – Vol. 1. – P. 464–467.

16. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Королева Е. А. Медленные колебания гемодинамики у больных сахарным диабетом // Эндокринная регуляция физиологических функций в норме и патологии : тез. докл. 2-й научн. конф. с междунар. участием, посвящ. 80-летию со дня рождения М. Г. Колпакова. – Новосибирск, 2002. – С. 25.

17. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Окислительный стресс при сахарном диабете // Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные и клинические аспекты: материалы всерос. конф. – Новосибирск, 2002. – С. 128–129.

18. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Королева Е. А., Желтова Л. И. Диабетическая автономная нейропатия в развитии сосудистых осложнений сахарного диабета // Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные и клинические аспекты: материалы всерос. конф. – Новосибирск, 2002. – С. 129–130.

19. Климонтов В. В., Бондарь И. А., Пауль Г. А., Надеев А. П. Ранние метаболические и гемодинамические маркеры диабетической нефропатии // Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные и клинические аспекты: материалы всерос. конф. – Новосибирск, 2002. – С. 143–144.

20. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Желтова Л. И., Королева Е. А., Цибин А. Н. Изменения системной и внутривисцеральной гемодинамики у больных с начинающейся диабетической нефропатией // Методы диагностики, лечения заболеваний и управления в медицине: материалы обл. научн.-практ. конф. – Новосибирск, 2002. – С. 70–72.

21. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Сабирова А. А. Нефрокардиальный синдром у больных сахарным диабетом I типа // Клиническая эндокринология – достижения и перспективы: тез. докл. научн.-практ. конф., посвящ. 80-летию со дня рождения профессора Д. Я. Шурыгина. – СПб., 2003. – С. 12–13.

22. Климонтов В. В., Бондарь И. А. Гипергомоцистеинемия при сахарном диабете I типа. // Клиническая эндокринология – достижения и перспективы: тез. докл. научн.-практ. конф., посвящ. 80-летию со дня рождения профессора Д. Я. Шурыгина. – СПб., 2003. – С. 47.

23. Bondar I. A., Klimontov V. V., Jeltova L. I. Blood homocysteine level and related cardiovascular risk factors in Type 1 diabetic patients with and without nephropathy // Diabetes Metabolism. – 2003. – Vol. 29. – P. 4S300–4S301.

24. Климонтов В. В., Бондарь И. А., Желтова Л. И., Цибин А. Н. Изменения системной гемодинамики и функционального почечного резерва у больных с диабетической нефропатией // *Нефрология и диализ.* – 2003. – № 3. – С. 254–255.
25. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Гипергомоцистеинемия у больных с диабетической нефропатией // *Сахарный диабет.* – 2003. – № 2. – С. 6–8.
26. Бондарь И. А., Королева Е. А., Климонтов В. В., Климентьева Е. И. Динамика изменений вегетативной регуляции ритма сердца при сахарном диабете 1 типа // *Журнал экспериментальной и клинической медицины.* – 2003. – № 2–3. – С. 47–51.
27. Климонтов В. В., Ким Л. Б., Березовская Г. А., Пауль Г. А. Изменения метаболизма соединительной ткани у больных с диабетической нефропатией // *Эндокринология Сибири: материалы 2-й Сибирской конф. эндокринологов.* – Красноярск, 2003. – С. 70–72.
28. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Королева Е. А., Желтова Л. И. Суточная динамика артериального давления у больных сахарным диабетом типа 1 с нефропатией // *Проблемы эндокринологии.* – 2003. – № 5. – С. 5–10.
29. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Нефрокардиальный синдром при сахарном диабете // *Сахарный диабет.* – 2003. – № 4. – С. 58–64.
30. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Желтова Л. И. Влияние Фозиноприла на суточную динамику артериального давления у больных с диабетической нефропатией // *Человек и лекарство: тез. докл. XI рос. нац. конгр.* – М., 2004. – С. 91.
31. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Гипергомоцистеинемия: фактор риска сосудистых осложнений сахарного диабета // *Проблемы эндокринологии.* – 2004. – № 2. – С. 24–29.
32. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Гликозаминогликаны и диабетическая нефропатия // *Проблемы эндокринологии.* – 2004. – № 2. – С. 29–34.
33. Klimontov V. V., Korolyova E. A., Jeltova L. I., Bondar I. A. Left ventricular geometry and related cardiovascular risk factors in Type 1 diabetic patients with and without nephropathy // *Diabetologia.* – 2004. – Vol. 47, Suppl. 1. – P. A421.
34. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Королева Е. А., Желтова Л. И. Автономная нейропатия и артериальная гипертензия при сахарном диабете 1-го типа // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* – 2004. – № 4, Прил. 2. – С. 68–69.
35. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Королева Е. А., Желтова Л. И., Чудинова О. Г. Факторы риска и варианты гипертрофии левого желудочка у больных сахарным диабетом типа 1 с нефропатией // *Всероссийский диабетологический конгресс, 3-й: тез. докл.* – М., 2004. – С. 238–239.
36. Бондарь И. А., Королева Е. А., Климонтов В. В., Желтова Л. И. Изменения системной гемодинамики у больных сахарным диабетом 1 типа с автономной нейропатией // *Всероссийский диабетологический конгресс, 3-й: тез. докл.* – М., 2004. – С. 240–241.
37. Климонтов В. В., Бондарь И. А., Надеев А. П., Ким Л. Б., Березовская Г. А., Пауль Г. А. Биохимические и морфологические маркеры гломерулосклероза у больных с доклиническими стадиями диабетической нефропатии // *Всероссийский диабетологический конгресс, 3-й: тез. докл.* – М., 2004. – С. 480.

38. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Гипертрофия левого желудочка у больных сахарным диабетом: факторы риска и подходы к коррекции // Сахарный диабет. – 2004. – № 2. – С. 42–46.

39. Ким Л. Б., Климонтов В. В. Активность реакций перекисного окисления липидов и метаболизм коллагена у больных с диабетической нефропатией // Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные, экологические и клинические аспекты: материалы всерос. конф. – Новосибирск, 2004. – С. 235–236.

40. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Ким Л. Б., Березовская Г. А., Коржавина О. А. Метаболизм коллагена и коллагенолитическая активность сыворотки крови у больных сахарным диабетом I типа с нефропатией // Сахарный диабет. – 2004. – № 3. – С. 10–13.

41. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Королева Е. А., Желтова Л. И., Чудинова О. Г. Суточный профиль артериального давления и Эхо-КГ-параметры левого желудочка у больных диабетической нефропатией // Клиническая медицина. – 2004. – № 10. – С. 18–21.

42. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Изменения метаболизма коллагена при диабетической нефропатии // Проблемы эндокринологии. – 2005. – № 2. – С. 23–28.

43. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Надеев А. П., Фунтиков А. С. Изменения клеточного состава почечных клубочков у больных сахарным диабетом типа I с ранними стадиями нефропатии // Журнал клинической и экспериментальной медицины. – 2005. – № 1–2. – С. 106–111.

44. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Королева Е. А., Желтова Л. И. Изменения гемодинамики у больных сахарным диабетом типа I с начинающейся нефропатией // Сибирский медицинский журнал. – 2005. – № 2. – С. 25–26.

45. Бондарь И. А., Демин А. А., Королева Е. А., Климонтов В. В., Чудинова О. Г. Роль диабетической автономной нейропатии в развитии гипертрофии миокарда при сахарном диабете типа I // Сибирский медицинский журнал. – 2005. – № 2. – С. 26–27.

46. Klimontov V. V., Bondar I. A., Nadeev A. P., Kim L. B., Korjavina O. A. Serum collagenolytic activity, urinary hydroxyproline excretion and glomerular accumulation of type III, IV and VI collagens in early diabetic nephropathy in type I diabetes // Diabetologia. – 2005. – Vol. 48, Suppl. 1. – P. A28.

47. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Надеев А. П., Ким Л. Б., Коржавина О. А. Нарушения метаболизма коллагена у больных сахарным диабетом типа I с ранними стадиями нефропатии // Медицина и образование в XXI веке: тез. докл. научн.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 70-летию НГМА. – Новосибирск, 2005. – С. 26–28.

48. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Диабетический гломерулосклероз: механизмы развития, диагностика, подходы к лечению // Актуальные проблемы современной эндокринологии: материалы межрегион. конф., посвящ. 70-летию НГМА. – Новосибирск, 2005. – С. 17–27.

49. Бондарь И. А., Королева Е. А., Климонтов В. В., Желтова Л. И., Чудинова О. Г. Взаимосвязь диабетической автономной нейропатии с ремоделированием миокарда при сахарном диабете I типа // Актуальные проблемы современной эндокринологии: материалы межрегион. конф., посвящ. 70-летию НГМА. – Новосибирск, 2005. – С. 27–35.

50. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Ким Л. Б. Уровень фибронектина в сыворотке крови у больных сахарным диабетом типа 1 // Актуальные проблемы современной эндокринологии: материалы межрегион. конф., посвящ. 70-летию НГМА. – Новосибирск, 2005. – С. 77–78.

51. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Надеев А. П. Клинико-морфологическая характеристика начальных этапов гломерулосклероза у больных сахарным диабетом типа 1 // Актуальные проблемы современной эндокринологии: материалы межрегион. конф., посвящ. 70-летию НГМА. – Новосибирск, 2005. – С. 78–80.

52. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Ким Л. Б., Надеев А. П. Нарушения метаболизма коллагена у больных с диабетической нефропатией: диагностика и подходы к коррекции // I съезд терапевтов Сибири и Дальнего Востока: тез. докл. – Новосибирск, 2005. – С. 91–92.

53. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Надеев А. П., Ким Л. Б. Экскреция гидроксипролина с мочой и локализация коллагенов III, IV и VI типа в клубочках почек у больных сахарным диабетом типа 1 с нефропатией // Проблемы эндокринологии. – 2005. – № 4. – С. 6–10.

54. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Ким Л. Б., Коржавина О. А., Пауль Г. А. Влияние фозиноприла на обмен коллагена и протеогликанов у больных с начальными стадиями диабетической нефропатии // Человек и лекарство: тез. докл. XIII рос. нац. конгр. – М., 2006. – С. 73.

55. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Роль дисфункций клубочковых клеток в развитии диабетической нефропатии // Проблемы эндокринологии. – 2006. – № 4. – С. 45–49.

56. Климонтов В. В., Надеев А. П. Аккумуляция минорных и интерстициальных коллагенов в почечных клубочках у больных с начальными стадиями диабетической нефропатии // Высокие медицинские технологии в эндокринологии: материалы V всерос. конгр. эндокринологов. – М., 2006. – С. 143.

57. Климонтов В. В., Надеев А. П., Бондарь И. А. Клинико-морфологические соотношения на начальных стадиях нефропатии у больных сахарным диабетом 1 типа // Высокие медицинские технологии в эндокринологии: материалы V всерос. конгр. эндокринологов. – М., 2006. – С. 144.

58. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Иммуновоспалительные механизмы в формировании диабетической нефропатии // Проблемы эндокринологии. – 2007. – № 2. – С. 34–40.

59. Bondar I. A., Klimontov V. V. Inflammatory markers are associated with early stages of diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients // First International EASD Postgraduate Course in Clinical Diabetes. Abstract Book. – St.-Petersburg, 2007. – P. 14.

60. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Надеев А. П. Мочевая экскреция трансформирующего фактора роста β – ранний маркер нефропатии у больных сахарным диабетом 1-го типа // Сахарный диабет. – 2007. – № 2. – С. 14–18.

61. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Ким Л. Б., Пауль Г. А. Влияние терапии фозиноприлом на обмен коллагена и протеогликанов у больных сахарным диабетом 1-го типа с начальными стадиями нефропатии // Бюллетень Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук. – 2007. – № 3. – С. 180–185.

62. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Надеев А. П. Сывороточный уровень и почечная экспрессия молекул межклеточной адгезии ICAM-1 у больных с диабетической нефропатией // Сахарный диабет. – 2007. – № 3. – С. 18–23.

63. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Надеев А. П., Бгатова Н. П. Начальные изменения в почках у больных сахарным диабетом 1-го типа // Проблемы эндокринологии. – 2007. – № 5. – С. 3–8.

64. Klimontov V. V., Bondar I. A., Nadeev A. P. Increased urinary excretion of proinflammatory cytokines is associated with renal structural changes in type 1 diabetic patients // Diabetologia. – 2007. – Vol. 50, Suppl. 1. – P. S467.

65. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Экскреция инсулиноподобного фактора роста 1 и фактора роста эндотелия сосудов с мочой у больных сахарным диабетом 1-го типа с нефропатией // Проблемы эндокринологии. – 2007. – № 6. – С. 3–7.

66. Климонтов В. В., Бондарь И. А., Надеев А. П. Мочевая экскреция фиброгенных факторов роста в диагностике диабетической нефропатии // Всероссийский диабетологический конгресс, 4-й: тез. докл. – М., 2008. – С. 218.

67. Климонтов В. В., Бондарь И. А., Надеев А. П. Хроническое воспаление в развитии диабетической нефропатии // Всероссийский диабетологический конгресс, 4-й: тез. докл. – М., 2008. – С. 219.

68. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Надеев А. П. Мочевая экскреция провоспалительных цитокинов и трансформирующего фактора роста β на ранних стадиях диабетической нефропатии // Терапевтический архив. – 2008. – № 1. – С. 52–56.

69. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Тубулоинтерстициальный фиброз при диабетической нефропатии: механизмы развития и подходы к лечению // Сахарный диабет. – 2008. – № 2. – С. 11–15.

70. Бондарь И. А., Климонтов В. В., Рогова И. П., Надеев А. П. Почки при сахарном диабете: патоморфология, патогенез, ранняя диагностика, лечение. – Новосибирск: Изд-во НГТУ, 2008. – 272 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ	– артериальная гипертензия
АД	– артериальное давление
АПФ	– ангиотензин-превращающий фермент
БМ	– базальная мембрана
ВРС	– вариабельность ритма сердца
ГАГ	– гликозаминогликаны
ГЛЖ	– гипертрофия левого желудочка
ДАД	– диастолическое АД
ДН	– диабетическая нефропатия
ИММЛЖ	– индекс массы миокарда левого желудочка
ИФА	– иммуноферментный анализ
ИФР-1	– инсулиноподобный фактор роста-1
КИГ	– кардиоинтервалография
КЛА	– коллагенолитическая активность
ОТС	– относительная толщина стенки

ПОЛ	– перекисное окисление липидов
РАС	– ренин-ангиотензиновая система
САД	– систолическое АД
СД	– сахарный диабет
СКФ	– скорость клубочковой фильтрации
СМАД	– суточное мониторирование артериального давления
ТБК-АП	– продукты, активные по отношению к тиобарбитуровой кислоте
ТФР- β	– трансформирующий фактор роста β
УЗДГ	– ультразвуковая доплерография
ФПР	– функциональный почечный резерв
ФРЭС	– фактор роста эндотелия сосудов
ХПН	– хроническая почечная недостаточность
ЧСС	– частота сердечных сокращений
ЭАМ	– экскреция альбумина с мочой
ICAM-1	– intercellular adhesion molecules (молекулы межклеточной адгезии)
IL-1 β	– interleukin-1 β (интерлейкин-1 β)
HbA _{1c}	– glycated hemoglobin A _{1c} (гликированный гемоглобин A _{1c})
HF	– high frequency (высокая частота)
LF	– low frequency (низкая частота)
MCP-1	– monocyte chemoattractant protein-1 (моноцитарный хемоаттрактантный протеин)
RANTES	– regulated upon activation, normal T-cell expressed and secreted (хемокин, экспрессируемый и секретируемый Т-клетками при активации)
sICAM-1	– soluble intercellular adhesion molecules (растворимые молекулы межклеточной адгезии)
VLF	– very low frequency (очень низкая частота)

Подписано в печать 30.06.2008 г. Формат 60×84/16
Усл. печ. л. 2,0. Тираж 100 экз. Заказ № 99п.
Отпечатано в типографии издательства «Сибмедиздат»
630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52
Тел.: 383-225-24-29, E-mail: sibmedisdat@rambler.ru