

Экскреция с мочой маркеров подоцитарной дисфункции у больных хроническим гломерулонефритом

И.Н. Бобкова, Н.В. Чеботарева, О.А. Еськова, Л.В. Козловская
ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва

Urinary excretion of podocyte dysfunction markers in patients with chronic glomerulonephritis

I.N. Bobkova, N.V. Chebotareva, O.A. Eskova, L.V. Kozlovskaya
I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит, протеинурия, повреждение подоцитов, нефринурия, экскреция с мочой VEGF, подоцитопения, гломерулосклероз.

В настоящее время предметом пристального внимания научных исследований в нефрологии является изучение роли подоцитарного повреждения в развитии протеинурии (ПУ) и прогрессировании хронического гломерулонефрита (ХГН).

Цель исследования: у больных с разными формами ХГН оценить выраженность экскреции с мочой маркеров повреждения подоцитов – нефрина и сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF), уточнить их значение как показателей активности и прогноза.

Материалы и методы. Обследовано 18 пациентов с неактивным ХГН (I группа), 18 – с выраженным мочевым синдромом (II группа), 38 – с нефротическим синдромом (НС) (III группа). Контрольную группу составили 10 здоровых лиц. Уровни нефрина и VEGF в моче определены методом ELISA.

Результаты. При активном ХГН (II и III гр.) отмечалось значимое повышение уровней нефрина и VEGF в моче по сравнению со здоровыми и пациентами I гр. У больных ХГН с НС эти показатели были достоверно выше, чем у больных с меньшей ПУ. В III группе при одинаковой выраженности НС нефринурия (НУ) была значимо выше при наличии АГ и зависела от длительности НС. У больных с прогрессирующим течением ХГН (с НС и ПН) отмечено резкое снижение мочевого показателя VEGF.

У 23 больных с НС в зависимости от исходного уровня НУ (у 11 – с низкой НУ <17 нг/мл, у 12 – с высокой НУ >17 нг/мл) проанализировали ответ на последующую иммуносупрессивную терапию. Показано, что при высокой НУ шанс достичь ремиссии НС в ближайшие 6 месяцев в 7 раз ниже, чем у пациентов с низкой НУ.

Заключение. Уровень мочевых маркеров подоцитарной дисфункции у больных ХГН может быть информативным тестом для мониторинга его активности, оценки прогноза.

Background. Recent studies have highlighted that podocyte (Pdc) injury leads to proteinuria (PU) and glomerulosclerosis. Urinary detection of Pdc injury markers is widely discussed as more sensitive indicators of chronic glomerulonephritis (CGN) activity and prognosis than PU.

The aim of our study was to define nephrinuria (NU) and vascular endothelial growth factor (VEGF) excretion for an assessment of CGN activity and therapy efficiency.

Methods. 74 CGN pts were studied: 18 – inactive CGN (I group), 18 – with PU 1–3 g/d (II), 38 – with nephrotic syndrome (NS) (III). 12 healthy subjects were studied as control. NU and urinary VEGF were measured by ELISA.

Results. We revealed significantly increased NU and VEGF in active CGN (II, III group) compared to I group and control. These levels were greatly higher in NS than in pts with lower PU. NU depended on NS duration. Positive correlations were revealed between NU and PU value ($r = 0,27$ $p < 0,05$) and mean blood pressure ($r = 0,3$ $p = 0,032$). Urinary VEGF level was the highest in NS without renal failure. In pts with NS and impaired renal function we revealed significantly decreased urinary VEGF.

9 from 11 (82%) pts with low NU (<17 ng/ml) had NS remission during 6 month of immunosuppressive therapy. On the other hand, 8 from 12 (67%) pts with high NU (>17 ng/ml) had the immunosuppression resistance (9 month to 2 years).

Conclusion. We suggest that estimation of NU and VEGF urinary levels may be useful for glomerular damage monitoring, CGN risk progression assessment and treatment efficiency prognosis.

Key words: chronic glomerulonephritis, proteinuria, podocytes damage, nephrinuria, urinary excretion of VEGF, podocytopenia, glomerulosclerosis.

В настоящее время предметом пристального внимания научных исследований в нефрологии является изучение роли подоцитарного повреждения/дисфункции в развитии протеинурии (ПУ) и прогрессировании гломерулопатий.

В экспериментальных моделях протеинурических форм нефропатий показано, что повреждение подоцитов различными факторами (гемодинамическими, метаболическими, медиаторами воспаления) сопровождается перестройкой их актинового цитоскелета, усиленным апоптозом, отслоением от базальной мембраны клубочка (БМК) и экскрецией с мочой как целых клеток (подоцитурия), так и отдельных подоцитарных белков, что при ограниченной пролиферативной способности подоцитов приводит к подоцитопении и гломерулосклерозу [14, 15].

Среди специфических подоцитарных белков важное значение имеет компонент щелевой диафрагмы – нефрин. Отщепление нефрина от клеточного цитоскелета подоцитов с последующим попаданием его в мочу (нефринурия) является одним из проявлений подоцитарной дисфункции и механизмом развития ПУ при ряде приобретенных заболеваний почек – диабетической нефропатии, гипертоническом нефроангиосклерозе, хроническом гломерулонефрите (ХГН) [1, 3, 17, 20]. Кроме своей основной роли как структурно-функционального компонента щелевой диафрагмы нефрин оказывает на подоциты антиапоптотический эффект и действует как аутокринный фактор их выживаемости. В эксперименте подтверждено, что механизм антиапоптотического действия нефрина тесно связан с эндотелиальным сосудистым фактором роста (VEGF), участвующим в фосфорилировании молекулы нефрина при помощи тирозиновых фосфокиназ. Полагают, что не только потеря нефрина с мочой, но и нарушение взаимодействий между нефрином и VEGF играет роль в развитии ПУ [8].

Важное значение имеет поиск «мочевых» биомаркеров, количественное определение которых позволяет судить о выраженности подоцитарной дисфункции и мониторировать структурно-функциональные нарушения в нефроне. В этой связи заслуживает внимания оценка уровня нефрина и VEGF в моче на разных этапах течения ХГН. Ранее эти мочевые биомаркеры исследовались главным образом в эксперименте, имеются лишь единичные клинические работы данного направления [18].

Цель исследования: определить выраженность экскреции с мочой нефрина и VEGF как показателей подоцитарной дисфункции у больных протеинурическими формами ХГН для оценки активности и прогноза заболевания.

Материалы и методы

Обследовано 74 больных различными формами ХГН: 37 (50%) женщин и 37 (50%) мужчин в возрасте от 18 до 74 лет (средний возраст $39 \pm 14,6$ года). Контрольную группу составили 10 здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными пациентами. Морфологически диагноз был подтвержден у 33 больных (у 12 выявлен мезангиопролиферативный ГН, у 6 – мезан-

гиокапиллярный ГН, у 8 – мембранозная нефропатия, у 2 – фокальный сегментарный гломерулосклероз (ФСГС), у 5 – нефросклероз).

Результаты исследования нефринурии (НУ) сравнивали в трех группах больных ХГН.

I группу составили 18 пациентов с неактивным ХГН и ПУ менее 1 г/сут (0,2 [0,06; 0,6] г/сут): 13 – с латентным ХГН, 5 – с полной ремиссией ХГН нефротического типа после успешной иммуносупрессивной терапии. У 3 больных этой группы выявлялась изолированная ПУ, а у остальных – в сочетании с умеренной эритроцитурией. Функция почек у 10 больных соответствовала ХБП 1–2-й ст., у 8 отмечалось стойкое снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) (47 [34; 50] мл/мин) – ХБП 3-й ст. – и повышение креатинина сыворотки крови (1,7 [1,3; 2,4] мг/дл). Артериальная гипертензия (АГ) – от 150/90 до 170/100 мм рт. ст. – наблюдалась у 8 пациентов.

Во II группу включены 18 больных с выраженным мочевым синдромом (МС): 16 пациентов, у которых ХГН изначально протекал с выраженным мочевым синдромом и персистировал в течение 15 [8; 24] месяцев, а также 2 больных, у которых мочевой синдром был результатом неполной ремиссии нефротического синдрома (НС) в течение 7–24 месяцев. Клинически эта группа больных характеризовалась ПУ до 3 г/сут (1,75 [1,2; 2,08] г/сут); у 5 больных выявлялась изолированная ПУ, у 13 ПУ сочеталась с умеренной эритроцитурией. Функция почек у 9 больных соответствовала ХБП 1–2-й ст. (СКФ – 84 [67; 110] мл/мин), креатинин сыворотки – 1,1 [0,8; 1,3] мг/дл). У 9 больных отмечалось стойкое нарушение функции почек – СКФ 38 [30; 48] мл/мин – ХБП 3-й ст., креатинин 2,3 [1,85; 2,63] мг/дл. АГ (от 150/90 до 220/120 мм рт. ст.) выявлялась у 9 больных.

В III группу вошли 38 больных ХГН с НС – отеками различной степени и локализации, ПУ до 18 г/сут (4,55 [2,9; 6,3] г/сут), гипоальбуминемией (2,86 [2,3; 3,4] г/дл). У 9 пациентов НС сочетался с острым нефритическим синдромом (ОНС) (АГ, эритроцитурия, преходящая почечная недостаточность (ПН) (креатинин от 1,5 мг/дл до 2,7 мг/дл (2,28 [1,86; 2,42] мг/дл), в том числе быстропрогрессирующая – у 1 больного), что расценивалось нами как проявление наиболее высокой активности ХГН. У 6 больных III группы наряду с сохраняющейся высокой ПУ (4,7 [3; 5,6] г/сут) отмечалось уже стойкое нарушение функции почек (СКФ – 22 [16; 40] мл/мин – ХБП 3б–4-й ст., креатинин – 3,35 [2,7; 4,0] мг/дл), высокая АГ (максимально до 220/100 мм рт. ст.), при морфологическом исследовании ткани почки у данных пациентов выявлен значительный фиброз.

У 23 больных ХГН с НС в зависимости от уровня НУ был оценен ответ на проводимую в дальнейшем (от 6 месяцев до 2 лет) иммуносупрессивную терапию: преднизолон (ПЗ) *per os*, в том числе в сочетании с «пульсами» преднизолона и циклофосфана внутривенно, циклоспорин А, микофенолата мофетил *per os*. Полной ремиссией НС считали уменьшение ПУ ниже 0,3 г/сут со стабильной функцией почек, частичной ремиссией – уменьшение ПУ на 50% и более от исходного уровня при стабильной функции почек, нормальные показатели альбумина и общего белка сыворотки крови.

Уровни нефрина и VEGF в моче исследовали методом непрямого иммуноферментного анализа («Uscn

Life Science Inc», China – для нефрина, «eBioscience», Austria – для VEGF). Мочевые показатели нефрина и VEGF были стандартизованы по величине креатинина в утренней порции мочи.

Статистический анализ данных проводили с применением стандартных статистических методик с помощью программы STATISTICA 6,0. Для сравнения двух групп использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Различия в частоте бинаминального признака оценивали по критерию Фишера. Корреляционный анализ проводили методом ранговой корреляции Спирмена. Для оценки эффективности иммуносупрессивной терапии у больных с различными показателями нефринурии применен метод Каплана–Майера, достоверность различий оценена по критерию Гехана и логранговому критерию, для разных уровней нефринурии рассчитывали отношение шансов по достижении ремиссии.

Результаты

Показатели экскреции нефрина с мочой у больных ХГН характеризовались высокой вариабельностью – от 0,5 до 58 нг/мл. Средние уровни НУ в группах больных активными формами ХГН (II, III гр.) были выше, чем у здоровых. У больных с НС (III гр.) НУ была значимо выше, чем у пациентов с менее выраженной ПУ (II гр.) (табл. 1).

Установлена прямая достоверная корреляция ($R_s = 0,27, p < 0,05$) между показателем НУ и суточной ПУ у больных ХГН II и III групп. По нашим данным, у больных с активным течением ХГН при наличии АГ величина НУ была значимо выше (16,1 [12,5; 27,8] нг/мл), чем у пациентов с нормальным артериальным давлением (10 [8,4; 14,6] нг/мл, $p < 0,01$). Выявлена прямая корреляция между НУ и средним артериальным давлением (II и III гр. $R_s = 0,3, p = 0,032$).

Мы более детально проанализировали экскрецию нефрина с мочой у больных с НС – в группе с клинически наиболее выраженным повреждением гломерулярного фильтра. Показатели НУ у данной категории пациентов, как и в общей группе больных ХГН, характеризовались высокой вариабельностью. Для определения основных закономерностей, влияющих на величину НУ, был выбран дискриминационный уровень – 17 нг/мл, превышающий медиану в этой группе больных. У 19 из 38 (50%) больных с НС отмечались высокие значения экскреции нефрина – более 17 нг/мл. У другой половины больных уровень НУ был менее 17 нг/мл. При одинаковой в обеих подгруппах степени выраженности ПУ среди пациентов с НУ > 17 нг/мл чаще отмечалось активное прогрессирующее течение нефрита (в эту подгруппу вошли 7 из 9 больных ХГН с сочетанием НС и ОНС, НС и быстро прогрессирующей ПН), НС характеризовался большей длительностью (при НУ > 17 нг/мл – 5 месяцев, при НУ < 17 нг/мл – в 2 раза дольше, в среднем около года до момента исследования, $p < 0,01$) (табл. 2).

Мы не выявили зависимости величины НУ от морфологической формы ХГН, но наиболее высокие в нашем исследовании показатели отмечались у 3 больных с мембранозной нефропатией (49, 51,2, 56,7 нг/мл) и у 1 с мезангиокапиллярным ГН (51 нг/мл). Мы оценили

Таблица 1

Уровень нефринурии у больных ХГН (n = 74)

Группы обследованных	n	Нефринурия (нг/мл/Сг мочи)
Здоровые	10	7,9 [1,7; 9,5]
ХГН I группа (неактивный)	18	7,25 [5,4; 9,8]
ХГН II группа (с выраженным МС)	18	9,5 [7,6; 13]*
ХГН III группа (с НС)	38	16,2 [9,9; 25,7]**

Примечание. Здесь и далее в таблицах представлены: медиана [интерквартильный размах];

* – $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми и I группой больных ХГН;

** – $p < 0,01$ по сравнению с I и II группой больных ХГН.

Таблица 2

Клиническая характеристика ХГН с НС в подгруппах с различной степенью нефринурии (n = 38)

Показатели	ХГН с НС и НУ < 17 нг/мл n = 19	ХГН с НС и НУ ≥ 17 нг/мл n = 19	p
Суточная протеинурия, г/сут	4,24 [3,1; 6,48]	5,0 [2,86; 6,3]	0,71
Альбумин сыворотки, г/дл	2,71 [2,3; 3,49]	3,1 [2,1; 3,3]	0,96
Общ. белок сыворотки, г/дл	4,97 [4,2; 5,7]	5,1 [4; 5,5]	0,83
Количество больных с тяжелым течением (сочетание НС и ОНС, БПН), %	2 из 19 (10,5%)	7 из 19 (36,8%)	0,06
Длительность НС, мес.	5 [1; 8,5]	9 [6; 17]	0,0018

Примечание. Различия между двумя группами оценивались с помощью критерия Манна–Уитни, по частоте бинаминального признака – критерия Фишера.

экскрецию нефрина с мочой в зависимости от наличия и распространенности склеротических изменений в клубочках почек. Так, не отмечено достоверного уменьшения НУ у больных клинически активным ХГН с выявленными в биоптатах почки признаками фибропластической трансформации клубочков ($U = 88,5, p = 0,68$), а также достоверной корреляции между уровнем нефрина в моче и процентом полностью склерозированных клубочков ($R_s = -0,32, p = 0,13$). Сохранение высокой НУ у пациентов со склеротическими изменениями клубочков, по-видимому, отражает активное поражение еще сохранившихся подоцитов (что также находит подтверждение в персистирующей у данных больных высокой ПУ) и может рассматриваться как дополнительный аргумент в пользу активной терапии данных больных.

Экскреция VEGF с мочой была оценена в репрезентативных группах у 67 больных ХГН (табл. 3). При неактивном ХГН уровень VEGF в моче не отличался от такового у здоровых, у пациентов с выраженным МС имел тенденцию к повышению, а у больных с НС выявлена выраженная вариабельность данного показателя. При отдельном анализе мочевой экскреции VEGF у

Таблица 3
Экскреция VEGF с мочой у больных ХГН (n = 67)

Группа обследованных	n	VEGF (пг/мл/Сг мочи)
Здоровые	12	62,2 [54,85–73,5]
ХГН I группа (неактивный)	9	64,1 [53,9–75,6]
ХГН II группа (с выраженным МС)	11	73,5 [59,4–90,2] [§]
ХГН III группа (с НС)		
А) с НС без ПН	36	125,2 [94,6–179,7] ^{*#§}
Б) с НС и ПН	11	54,65 [38,7–71,5] ^{*#}

Примечание. *p* < 0,05: * – по сравнению со здоровыми; # – по сравнению с ХГН без НС; § – по сравнению с ХГН с НС и ПН.

больных ХГН с НС было выявлено достоверное ее повышение у пациентов с сохранной функцией почек и резкое снижение у больных с НС и ПН (табл. 3). Именно в подгруппе больных с прогрессирующим течением ХГН (с НС и ПН) выявлялись наиболее высокие показатели НУ (рис. 1).

Величина мочевого показателя VEGF у больных активным ХГН с сохранной функцией почек прямо коррелировала с уровнем ПУ ($R_s = 0,673, p < 0,0001$), а у пациентов с ПН степень снижения VEGF в моче зависела от уровня креатинина крови ($R_s = -0,31, p < 0,05$). У больных с прогрессирующим течением ХГН (с НС и ПН) была получена обратная корреляция между величиной экскреции с мочой VEGF и выраженностью НУ ($R_s = -0,8, p < 0,05$).

Для оценки НУ как показателя прогноза ХГН мы проанализировали ответ на последующую иммуносупрессивную терапию у 23 больных ХГН с НС с исходно разным уровнем нефрина в моче (11 больных с НУ < 17 нг/мл и 12 больных с НУ > 17 нг/мл). У 9 из 11 (82%) больных с низкой экскрецией нефрина с мочой ремиссия НС была достигнута в течение полугода лечения, причем у 5 больных этой подгруппы НС купирован достаточно быстро – в течение 4 месяцев (рис. 2). В то же время среди 12 пациентов с высокими показателями НУ только у 2 к 6 месяцам лечения наступила частичная ремиссия НС, еще у 2 больных удалось купировать НС в результате более длительной иммуносупрессивной терапии (в течение 10 и 27 мес.) (рис. 2). У 8 из 12 (67%) больных с высокой НУ не был получен ответ на адекватную терапию различными иммуносупрессивными препаратами (включая введение сверхвысоких доз преднизолона и циклофосфана, лечение циклоспорином и микофенолата мофетиллом), проводимую в течение длительного срока – от 9 мес. до 2,5 года (рис. 2).

Рассчитав отношения шансов, мы показали, что при отсутствии эффекта иммуносупрессивной терапии через 6 месяцев у больных с НУ > 17 нг/мл шансы достичь ремиссии НС в дальнейшем снижаются в 7 раз. Напротив, у больных с НУ < 17 нг/мл вероятность достижения ремиссии НС в течение первых 6 месяцев лечения очень высока – в 23 раза выше, чем у больных с высоким ее уровнем (ОШ = 22,5, $p < 0,05$).

Для определения информативности показателя НУ в оценке прогноза у больных с НС мы построили ROC-кривую. Характер расположения кривой и высокий

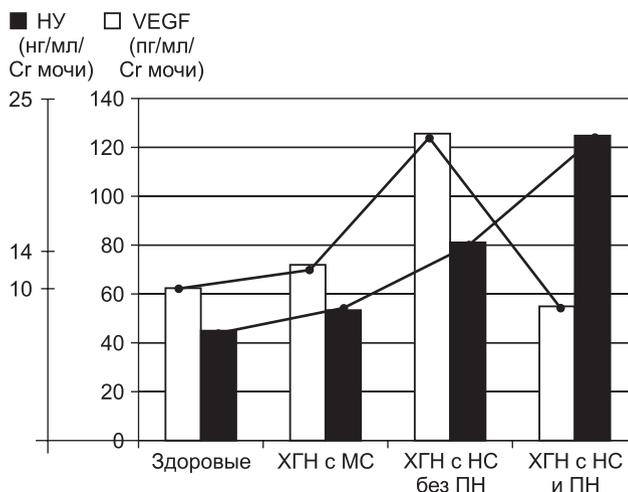


Рис. 1. Изменение показателей экскреции нефрина и VEGF с мочой у больных с разной клинической активностью ХГН

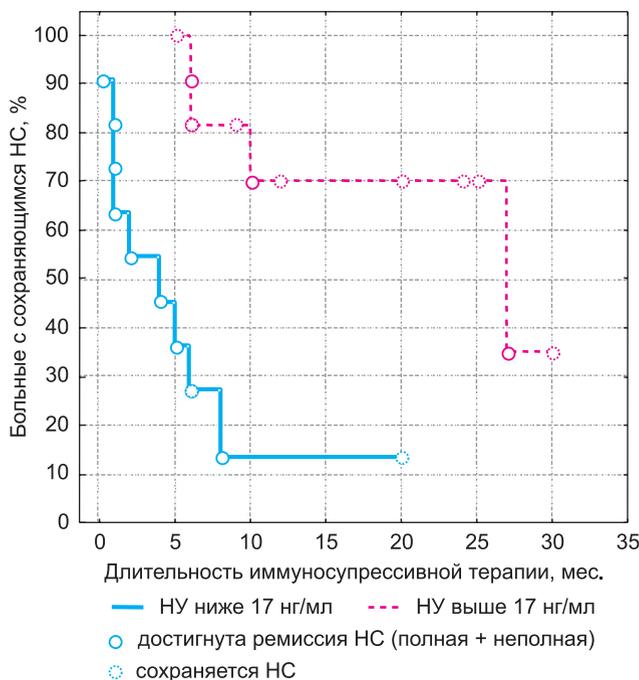


Рис. 2. Сроки достижения ремиссии НС у больных ХГН с различным уровнем нефринурии. Различия между группами статистически достоверны (критерий Гехана = -3,154, $p = 0,002$, критерий logrank = 2,97, $p = 0,003$)

показатель площади под кривой ($AUC = 0,864$) свидетельствовал о том, что уровень НУ обладает высокой информативностью (чувствительность 80%, специфичность 85%) в оценке риска прогрессирования ХГН и в прогнозировании ответа на лечение.

Обсуждение

Благодаря современным достижениям экспериментальной нефрологии и клеточных технологий сегодня получены новые данные о биологии подоцита и структуре щелевой диафрагмы, позволившие подтвердить важную роль подоцитов в патогенезе не только наследственных, но и приобретенных протеинури-

ческих форм поражения почек (ХГН, диабетической нефропатии, гипертоническом нефроангиосклерозе и др.) [4, 5, 19].

Несмотря на различия этиологии, патогенеза и наличие клинико-морфологических особенностей, все протеинурические формы гломерулярного поражения почек объединяет общий фенотип подоцитарного повреждения. Он характеризуется дислокацией щелевидной диафрагмы к апикальной поверхности подоцита, реорганизацией цитоскелета в плотную сеть, что ведет к сглаживанию ножек подоцита и слиянию фильтрационных щелей, отрывом отдельных подоцитспецифических белков (в частности, нефрина), отсложкой подоцитов от БМК и смыванием их в мочевое пространство (подоцитурия) с последующим уменьшением их количества в клубочке (подоцитопения) [14, 15]. Тесная взаимосвязь подоцита с разными клетками и структурами клубочка способствует тому, что нарушение одной или нескольких функций подоцита (подоцитарная дисфункция) неизбежно влечет за собой повреждение других компонентов гломерулярного фильтра, приводит к появлению ПУ, а при прогрессировании этих нарушений – к развитию нефросклероза и ПН.

В эксперименте установлено, что повышение экскреции нефрина с мочой вследствие повреждения подоцитов происходит под влиянием антител, иммунных комплексов, конечных компонентов активации комплемента (мембрано-атакующего комплекса), провоспалительных цитокинов [5, 17, 18]. Так, на модели мембранозной нефропатии (Хеймановский нефрит) было показано, что внедрение компонентов комплемента (C5b-9) в мембрану подоцитов приводит к повреждению их актинового цитоскелета (F-актина), отщеплению экстрацеллюлярной части молекулы нефрина, экскреции подоцитов с мочой [18]. При этом в ткани почки еще до развития ПУ при электронной микроскопии отчетливо визуализируются фокусы деструкции щелевой диафрагмы, соответствующие участкам сглаженных отростков подоцитов и сниженной экспрессии нефрина. В более поздний период, при развитии массивной ПУ количество этих дефектов резко возрастает, они распределяются неравномерно, чередуются с областями сохранной щелевой диафрагмы [12]. Представленные экспериментальные данные подтверждают тесную связь изменений актинового цитоскелета подоцита со структурно-функциональными нарушениями щелевой диафрагмы и указывают на возможность использования НУ в качестве маркера повреждения подоцитов и подоцитарной дисфункции.

В проведенном нами исследовании уровень НУ у больных активным ХГН был достоверно выше, чем у пациентов с неактивной формой заболевания. Высокие показатели НУ отмечались у больных с НС. О наличии патогенетической связи НУ и ПУ свидетельствует установленная нами прямая корреляция между этими показателями. В то же время у больных с НС нефринурия характеризовалась значительной вариабельностью. Мы установили, что для развития высокой НУ у этих больных имела значение не только выраженность, но и длительность НС. По-видимому, персистирующее активное воспаление в клубочках почки приводит к пролонгированному повреждению и создает условия

для вовлечения все большего числа подоцитов с развитием выраженной НУ.

По нашим данным, повышение артериального давления у больных ХГН, независимо от выраженности ПУ, способствует увеличению экскреции нефрина с мочой. Дополнительное повреждающее воздействие системной АГ, а также внутриклубочковой гипертензии на подоциты и экспрессию генов белков щелевой диафрагмы, в том числе нефрина, было продемонстрировано при диабетической нефропатии и гипертоническом нефроангиосклерозе [2, 4, 6, 19]. Полагают, что наряду с факторами воспаления значительное повреждающее воздействие на подоциты может оказывать активированная РААС, в том числе локально почечная. Установлено, что внутриклубочковая гипертензия приводит к механическому растяжению подоцитов с повреждением комплекса адгезивных белков, закрепляющих подоциты на БМК, и разрушением компонентов щелевой диафрагмы [16]. В эксперименте на крысах подтверждена экспрессия рецепторов к ангиотензину I и II типа на поверхности подоцитов, и было продемонстрировано, что АГ, развившаяся при введении экспериментальным животным ангиотензина, сопровождается апоптозом подоцитов и уменьшением гломерулярной экспрессии нефрина [13].

Показано, что нефрин кроме своей роли основного структурно-функционального компонента щелевой диафрагмы оказывает антиапоптотический эффект и способствует сохранению целостности подоцитов (правильной организации цитоскелета, поляризации, эндоцитоза) и поддержанию жизнеспособности клетки в целом. Так, фосфорилирование нефрина приводит к усилению взаимодействия нефрин–подоцин, и следовательно, нефрин-опосредованному сигналу для подоцитов. Напротив, уменьшение фосфорилирования нефрина способствует его связыванию с β -аррестином-2, эндоцитозу сформированного комплекса, ослаблению сигнала и созданию условий для апоптоза подоцитов [8].

Механизм антиапоптотического действия нефрина тесно связан с VEGF, участвующим в фосфорилировании молекулы нефрина при помощи тирозиновых фосфокиназ. Наибольшее количество рецепторов к VEGF экспрессируется эндотелиальными клетками, в то же время они обнаружены и на подоцитах (VEGFR 1-го и 3-го типа). VEGF, секретируемый подоцитами и связывающийся с рецепторами на их поверхности, оказывает аутокринное влияние на белок щелевой диафрагмы нефрин [7]. Фосфорилирование цитоплазматического домена нефрина с помощью VEGF обеспечивает, в свою очередь, фосфорилирование протективных антиапоптотических молекул (обсуждается активация протеина Bcl-2) и повышение жизнеспособности подоцитов [9]. При снижении продукции VEGF ослабляется связь нефрина с подоцином, экстрацеллюлярная часть молекулы нефрина отщепляется от мембраны подоцита и экскретируется в мочевое пространство, что приводит к развитию ПУ.

Значение VEGF в механизмах развития ПУ подтверждено в эксперименте. Так, в исследовании A. Nara и соавт. блокирование гена VEGF у здоровых крыс приводило к развитию АГ и появлению ПУ, а у крыс с экспериментальным анти-БМК-нефритом способствовало более тяжелому течению болезни с массивной ПУ,

анасаркой и быстрым развитием гломерулосклероза [11]. В клинических условиях развитие подоцитарной дисфункции при дефиците VEGF продемонстрировано у женщин с преэклампсией [10].

В нашем исследовании у пациентов с активным течением ХГН без нарушения функции почек наряду с высокой НУ было отмечено увеличение экскреции с мочой VEGF, что в этом случае можно расценивать как адаптивный механизм, противодействующий индуцируемому протеинурией усиленному апоптозу подоцитов и эндотелиальных клеток. Корреляция мочевого показателя VEGF и ПУ является подтверждением установленного в эксперименте участия гломерулярного VEGF в повышении проницаемости почечного фильтра [8].

Наиболее высокие значения НУ в нашем исследовании отмечались у больных с тяжелым прогрессирующим течением нефрита – сочетанием НС и ОНС, быстро прогрессирующей ПН, то есть яркими клиническими проявлениями активного иммунного воспаления в клубочках. В то же время в этой группе пациентов уровень VEGF, экскретируемого с мочой, значимо снижался, отражая развитие тяжелой подоцитарной дисфункции.

Подоциты являются высокодифференцированными клетками с низкой способностью к пролиферации, усиленное их слущивание в мочевое пространство приводит к подоцитопении, необратимому «оголению» БМК и образованию грыжевидных выпячиваний в сторону капсулы клубочка. Соприкосновение оголенных участков БМК с париетальным эпителием капсулы является триггером для формирования синехий и начала склерозирования клубочков. Выраженная подоцитопения является основной детерминантой развития гломерулосклероза [14, 15].

В нашем исследовании у большинства больных с высокой НУ адекватная иммуносупрессивная терапия не привела к исчезновению НС, а шансы достижения ремиссии заболевания (как в ближайшие месяцы, так и при более длительном лечении) у данной категории больных значительно уменьшались. Проспективный анализ течения ХГН показал, что высокая НУ, отражающая массивную подоцитирию, тяжелый дефект гломерулярного барьера, является признаком неблагоприятного прогноза. По нашим данным, разнонаправленный характер изменений уровней в моче нефрина и VEGF отражает прогрессирующую подоцитарную дисфункцию, указывает на высокий риск развития гломерулосклероза и ПН. Исследование динамики данных мочевых биомаркеров у больных ХГН может иметь значение для мониторинга течения и оценки прогноза заболевания.

Таким образом, в результате проведенного исследования подтверждена возможность оценки подоцитарного повреждения у больных ХГН с помощью изучения уровней нефрина и VEGF в моче. Благодаря доступности материала исследования предоставляется возможность мониторить активность болезни, оценивать прогноз, что важно для определения тактики лечения больных.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Aaltonen P, Luimula P, Astrom E. et al. Changes in the expression of nephrin gene and protein in experimental diabetic nephropathy // Lab. Invest. 2001. Vol. 8. P. 1185–1190.
2. Amazonas R.B., de Almedia Sanita R., Kawasbi H. et al. Prevention of hypertension with or without renin-angiotensin system inhibition precludes nephrin loss in the early stage of experimental diabetes mellitus // Nephron. Physiol. 2007. Vol. 107. P. 57–64.
3. Benigni A, Tomasoni S, Gagliardini E. et al. Blocking angiotensin II synthesis/activity preserves glomerular nephrin in rats with severe nephrosis // J. Am. Soc. Nephrol. 2001. Vol. 12. P. 941–948.
4. Cooper M.E. Interaction of metabolic and haemodynamic factors in mediating experimental diabetic nephropathy // Diabetologia. 2001. Vol. 44. P. 1957–1972.
5. Doublier S, Ruotsalainen V, Salvidio G. Nephrin redistribution on podocytes is a potential mechanism for proteinuria in patients with primary acquired nephritic syndrome // Am. J. Pathol. 2001. Vol. 158 (5). P. 1723–1731.
6. Forbes J.M., Bonnet F., Russo L.M. et al. Modulation of nephrin in the diabetic kidney: association with systemic hypertension and increasing albuminuria // J. of Hypertension. 2002. Vol. 20 (5). P. 985–992.
7. Foster R.R., Hole R., Anderson K. et al. Functional evidence that vascular endothelial growth factor may act as an autocrine factor on human podocytes // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2003. Vol. 284. P. 1263–1273.
8. Foster R.R., Saleem M.A., Mathieson P.W. et al. Vascular endothelial growth factor and nephrin interact and reduce apoptosis in human podocyte // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2005. Vol. 288. P. F48–57.
9. Fujio Y., Walsb K. Akt mediates cytoprotection of endothelial cells by vascular endothelial growth factor in an anchorage-dependent manner // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 275. P. 16349–16354.
10. Garovic V.D., Wagner S.J., Petrovic L.M. et al. Glomerular expression of nephrin and synaptopodin but not podocin is decreased in kidney sections from women with preeclampsia // Nephrol. Dial. Transplant. 2007. Vol. 22. P. 1136–1143.
11. Hara A., Wada T., Furuchi K. et al. Blockade of VEGF accelerates proteinuria via decrease in nephrin expression in rat crescentic glomerulonephritis // Kidney Int. 2006. Vol. 69 (11). P. 1986–1995.
12. Hub W., Kim D.J., Kim M.-K. Expression of nephrin in acquired human glomerular diseases // Nephrol. Dial. Transplant. 2002. Vol. 17. P. 478–484.
13. Jia J., Ding G., Zhu J. et al. Angiotensin II infusion induced nephrin expression changes and podocyte apoptosis // Am. J. Nephrol. 2008. Vol. 28 (3). P. 500–507.
14. Kriz W., Greitz N., Lemley K.V. Progression of glomerular diseases: is the podocyte the culprit? // Kidney Int. 1998. Vol. 54. P. 687–697.
15. Lemley K.V., Lafayette A., Safai G. et al. Podocytopenia and disease severity in IgA nephropathy // Kidney Int. 2002. Vol. 61. P. 1475–1485.
16. Lewko B., Stepinski J. Hyperglycemia and mechanical stress: Targeting the renal podocyte // J. Cell. Physiol. 2009. Vol. 221 (2). P. 288–295.
17. Luimula P., Abola H., Wang S.X. et al. Nephrin in experimental glomerular disease // Kidney Int. 2000. Vol. 58. P. 1461–1468.
18. Nakatsue T., Koike H., Han G.D. et al. Nephrin and podocin dissociate at the onset of proteinuria in experimental membranous nephropathy // Kidney Int. 2005. Vol. 67. P. 2239–2253.
19. Wang G., Lai F.M., Kwan B.C. et al. Podocyte loss in human hypertensive nephrosclerosis // Am. J. Hypertens. 2009. Vol. 22 (3). P. 300–306.
20. Yuan H., Takeuchi E., Taylor G.A. et al. Nephrin dissociates from actin, and its expression is reduced in early experimental membranous nephropathy // J. Am. Soc. Nephrol. 2002. Vol. 13. P. 946–956.

Дата получения статьи: 3.07.13
Дата принятия к печати: 14.08.13