ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРОБЛЕМ ЗДОРОВЬЯ СЕМЬИ И РЕПРОДУКЦИИ ЧЕЛОВЕКА»

*На правах рукописи*

**Чугунова Елена Владимировна**

# ПАРАМЕТРЫ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО, КАРБОНИЛЬНОГО СТРЕССОВ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С РАННИМИ МАРКЕРАМИ ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК У МУЖЧИН С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1 ТИПА

3.3.3. Патологическая физиология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, академик РАН, профессор
*Колесникова Любовь Ильинична*

Научный консультант:
доктор биологических наук, профессор РАН
*Даренская Марина Александровна*

Иркутск – 2022

# ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ……..…….4
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ ФОРМИРОВАНИЯ НЕФРОПАТИИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1 ТИПА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)……..…13
1.1. Основные аспекты этиопатогенеза диабетической нефропатии при сахарном диабете 1 типа…….....13
1.2. Современные маркеры почечного повреждения при формировании диабетической нефропатии……...…….…...21
1.3. Окислительный и карбонильный стрессы, как ключевые механизмы формирования диабетической нефропатии ……..……..……...27
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ……..…….……...36
2.1. Объекты и дизайн исследования……..……..……..36
2.2. Методы исследования…….…..……41
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ……48
3.1. Интенсивность окислительного, карбонильного стрессов и компонентов эндогенной интоксикации у мужчин с сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии……...……...48
3.2. Оценка параметров почечного повреждения у мужчин с сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии……...59
3.3. Сравнительный анализ изменений функциональных связей показателей окислительного, карбонильного стрессов и маркеров почечного повреждения у мужчин с сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии……...63

3.4. Выявление наиболее информативных метаболических показателей у мужчин с сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии……..70
3.5. Изменение показателей окислительного, карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации у мужчин с сахарным диабетом 1 типа в динамике лечения препаратом α-липоевой кислоты ……...74
ЗАКЛЮЧЕНИЕ……87
ВЫВОДЫ…….….....96
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ……..……...98
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ……100

# ВВЕДЕНИЕ

## Актуальность темы исследования и степень её разработанности

В настоящее время во всех странах мира отмечается стремительный рост заболеваемости сахарным диабетом (СД), который принимает характер глобальной пандемии. Данные Международной диабетической ассоциации свидетельствуют о том, что примерно 537 млн человек взрослого населения мира страдают СД, и, согласно прогнозам, данная цифра к 2030 году может возрасти до 643 млн, а к 2040 г. достичь 783 млн человек [135]. Российская Федерация (РФ) входит в число стран-лидеров по СД. Истинная распространённость СД в РФ ориентировочно в 3–4 раза выше официальной (9–10 млн человек) [18]. Число больных сахарным диабетом 1 типа (СД 1 типа) в РФ составляет более 250 000 человек [18].

Наиболее опасными проявлениями СД являются хронические сосудистые осложнения, которые являются причинами ранней инвалидизации и смертности пациентов [55, 125]. Диабетическая нефропатия (ДН) – специфическое поражение почек, которое встречается у 20,1 % пациентов с СД 1 типа и у 6,3 % с СД 2 типа [51, 56, 72, 115, 214]. При ДН в тканях почек последовательно происходит ряд структурно-функциональных событий, включающих альбуминурию, гломерулярное рубцевание, тубулоинтерстициальный фиброз, прогрессирующее снижение функциональной активности почек вплоть до терминальной почечной недостаточности [149].

В связи с этим раннее обнаружение потенциально обратимых повреждений в почках крайне актуально [73]. Основным и единственным на сегодня методом диагностики ДН считается определение уровня альбуминурии и альбумин-креатининового соотношения [55]. Однако установлено, что изменения в тканях почек у пациентов с СД имеют место уже в условиях нормальной экскреции альбумина с мочой, а обнаружение альбуминурии указывает на наличие склероза в 20–25 % нефронов [56, 72]. К моменту же возникновения стойкой альбуминурии (протеинурии) 50–70 % ренальной массы, как правило, подвергается склерозированию [56].

Всё это диктует необходимость выявления более информативных биомаркеров ранней манифестации, течения и прогнозирования ДН. Особый акцент в настоящее время делается на исследовании патогенетических механизмов развития нарушений на доклинических стадиях ДН, которые не только позволят рано диагностировать данное диабетическое осложнение, но и помогут установить ранние биомаркеры первичных поражений почек [33, 73, 138]. На текущий момент выделены основные группы ранних потенциальных почечных маркеров, в том числе тубулярные маркеры, маркеры повреждения подоцитов, факторы роста и т. д., позволяющие прогнозировать развитие ДН с высокой специфичностью и чувствительностью [33, 73].

Однозначно признано, что митохондриальная дисфункция способствует развитию и прогрессированию ДН [5, 85, 175]. Митохондрии, как известно, являются основными поставщиками активных форм кислорода (АФК), повышенное накопление которых приводит к развитию окислительного стресса (ОС) [3]. Взаимодействие АФК с клеточными компонентами – липидами, белками и дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК) – в конечном итоге приводит к их модификации, и данные изменения могут сохраняться в течение длительного времени, даже после нормализации уровня глюкозы в крови [3, 57, 44]. Данный феномен лежит в основе так называемого механизма «метаболической памяти», основу которого составляют конечные продукты гликирования (КПГ), так называемый карбонильный стресс [14, 52]. КПГ накапливаются и сохраняются в сосудах в течение длительного временного периода, что в совокупности с дополнительными патогенетическими механизмами повреждения приводит к развитию серьёзных дизрегуляционных процессов в почках [44]. Окислительные повреждения биосубстратов клетки способствуют развитию эндогенной интоксикации организма [15, 152]. Повреждающими агентами в данном случае становятся несбалансированно действующие биологически активные вещества, так называемые среднемолекулярные пептиды (СМП), циркулирующие в крови и приобретающие свойства эндогенных токсинов [9, 60].

Современная антиоксидантная терапия представлена различными препаратами (препараты α-липоевой кислоты (α-ЛК), α-токоферола, витамина С, селена и др.), которые широко применяются не только для лечения сахарного диабета, но и других системных заболеваний [47, 89, 98]. Доказано, что α-ЛК – это мощный естественный антиоксидант широкого спектра действия [107]. Её способность к нейтрализации свободных радикалов многократно подтверждена экспериментальными и клиническими исследованиями [202].

Несмотря на многочисленные исследования, некоторые звенья патогенеза диабетической нефропатии у больных СД 1 типа до сих пор неизвестны. Так, до сих пор недостаточно знаний об активности реакций окислительного и карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и их взаимосвязях с маркерами почечного повреждения на доклинических стадиях диабетической нефропатии. Крайне недостаточно исследований указанных параметров у больных с СД при проведении терапии препаратами с антиоксидантными свойствами. Очевидно, что изучение взаимодействия параметров окислительного повреждения биосубстратов и изменения уровня ранних маркеров почечного повреждения позволит своевременно выявлять ДН и повысить эффективность назначаемой нефропротективной терапии.

Развитие СД у лиц молодого репродуктивного возраста, в частности в мужской популяции, повышает значимость проблемы профилактики и лечения его осложнений в связи с высоким риском нарушений репродуктивного здоровья. В связи с этим данная когорта пациентов представляет особый интерес.

В связи с вышеизложенным **целью исследования** явилось выявить закономерности изменений показателей окислительного, карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и их взаимосвязь с уровнем почечных маркеров – подокаликсина и β2-микроглобулина – у мужчин с сахарным диабетом 1 типа для разработки способов раннего прогнозирования и коррекции диабетической нефропатии.

**Задачи исследования:**

1. Оценить интенсивность окислительного, карбонильного стрессов и эндогенной интоксикации у мужчин с сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии.
2. Установить особенности изменений уровня ранних маркеров почечного повреждения – подокаликсина и β2-микроглобулина – у мужчин с сахарным диабетом 1 типа в зависимости от функционального состояния почек.
3. Определить характер взаимосвязей исследуемых показателей с уровнем ранних почечных маркеров у мужчин с сахарным диабетом 1 типа и доклиническими стадиями нефропатии.
4. Установить наиболее информативные показатели окислительного, карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и маркеров почечного повреждения у мужчин с сахарным диабетом 1 типа для раннего прогнозирования развития диабетической нефропатии.
5. Выявить изменения в показателях окислительного и карбонильного стрессов, а также эндогенной интоксикации у мужчин с сахарным диабетом 1 типа при проведении терапии препаратом с антиоксидантными свойствами.

**Научная новизна**

Впервые проведена комплексная оценка активности реакций окислительного и карбонильного стрессов на основе анализа показателей повреждения липидов, белков, ДНК, ферментативных и неферментативных компонентов антиоксидантной защиты у мужчин, больных СД 1 типа, на доклинических стадиях диабетической нефропатии.

Выявлено, что у пациентов с СД 1 типа вне зависимости от стадии альбуминурии (А1, А2 стадии) регистрируются окислительные повреждения основных структурных компонентов клеток – липидов (повышенные уровни первичных и вторичных продуктов липопероксидации на стадиях А1 и А2), белков (повышенные уровни метилглиоксаля на стадиях А1 и А2) и ДНК (более высокий уровень 8-гидрокси-2-деоксигуанозина на стадии А2). Уровень эндогенной

интоксикации (фракции среднемолекулярных пептидов 238, 254) у мужчин с СД 1 типа характеризуется повышенными значениями в обеих группах.

Получены новые данные о разнонаправленной активности антиоксидантных факторов у пациентов с СД 1 типа на стадиях А1 (повышенные значения ретинола; сниженные – общей антиокислительной активности, α-токоферола, активности глутатионпероксидазы) и А2 (повышенные значения ретинола, восстановленного и окисленного глутатионов, активности глутатионредуктазы; сниженные – α-токоферола), свидетельствующие о различной реактивности звеньев антиоксидантной защиты в условиях манифестации диабетической нефропатии.

Впервые проведена оценка сравнения информативности ранних неинвазивных маркеров гломерулярного (подокаликсин), тубулоинтерстициального (β2-микроглобулин) повреждения почек со стандартными диагностическими тестами (альбуминурия, соотношение альбумин/креатинин в моче), установившая наибольшую чувствительность и специфичность подокаликсина по сравнению с классическими маркерами.

Впервые исследованы взаимосвязи показателей окислительного, карбонильного стрессов и эндогенной интоксикации с уровнем ранних маркеров повреждения почек (подокаликсина, β2-микроглобулина) у больных сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии, заключающиеся в наличии тесных взаимодействий подокаликсина с показателями деструкции ДНК, эндогенной интоксикации и восстановленного глутатиона в группе пациентов со стадией А1 и отсутствии данных зависимостей при стадии А2.

Установлено, что добавление к комплексной терапии препарата с антиоксидантными свойствами (α-липоевая кислота) способствует снижению значений среднемолекулярных пептидов, росту показателей общей антиокислительной активности крови, глутатион-S-трансферазы, активности глутатионредуктазы в группе А1 и снижению концентрации диеновых конъюгатов, восстановленной и окисленной форм глутатиона в группе А2 относительно данных до лечения.

Разработана концептуальная схема изменений показателей окислительного, карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и их взаимосвязей с ранними почечными маркерами у мужчин с СД 1 типа и начальными проявлениями нефропатии.

**Теоретическая и практическая значимость.**

Полученные результаты позволяют расширить фундаментальные представления о патогенетических механизмах формирования диабетической нефропатии у мужчин репродуктивного возраста.

Вследствие патогенетической значимости окислительных повреждений липидов, белков, ДНК, а также раннего почечного маркера – подокаликсина – в генезе доклинических проявлений диабетической нефропатии необходимо проведение своевременной диагностики указанных изменений и назначение соответствующих препаратов с антиоксидантными свойствами.

На основе полученных данных могут быть созданы методические рекомендации для использования в практическом здравоохранении, направленные на раннее выявление поражения почек у данной когорты больных, с дальнейшей возможностью своевременного назначения нефропротективной терапии, что позволит предотвратить прогрессирование данного заболевания.

Исследовательская работа проводилась в рамках тематических планов НИР ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»: фундаментальное научное исследование № 121022500180-6 «Патофизиологические механизмы и генетико-метаболические предикторы сохранения репродуктивного здоровья и долголетия в различных возрастных, гендерных и этнических группах»; поисковое научное исследование АААА-А20-120120790034-9 «Поиск новых биохимических маркеров доклинической диагностики микрососудистых осложнений у больных сахарным диабетом».

**Методология и методы исследования**

При обследовании пациентов с СД 1 типа была проведена комплексная оценка клинических и лабораторных данных. В работе использованы

спектрофотометрические (определение уровня продуктов липопероксидации, параметров антиоксидантной защиты, среднемолекулярных пептидов), спектрофлюорометрические (определение концентрации продуктов липопероксидации, параметров антиоксидантной защиты), иммуноферментные (определение параметров антиоксидантной защиты, 8-ОН-2-деоксигуанозина (8-OHdG), метилглиоксаля (МГ), подокаликсина, β2-микроглобулина). Указанные методы были применены при обследовании 69 мужчин с сахарным диабетом 1 типа и доклиническими стадиями нефропатии, а также 28 практически здоровых мужчин контрольной группы.

**Положения, выносимые на защиту**

1. У мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, изменения показателей окислительного и карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и недостаточности факторов антиоксидантной защиты проявляются уже на ранней стадии диабетической нефропатии – А1. Интенсивность данных изменений коррелирует со стадиями развития диабетической нефропатии, определёнными стандартными диагностическими тестами.

2. Определение подокаликсина в моче обладает высокой чувствительностью и специфичностью по сравнению со стандартными тестами на альбуминурию, что указывает на его большую значимость при диагностике диабетической нефропатии.

3. Наиболее информативные показатели окислительного повреждения липидов (диеновые конъюгаты, окисленный глутатион), белков (метилглиоксаль), ДНК (8-ОН-2-деоксигуанозин) и эндогенной интоксикации (среднемолекулярные пептиды фракции 254) могут являться дополнительными критериями отнесения мужчин с сахарным диабетом 1 типа к группе риска развития начальных проявлений диабетической нефропатии и обосновать соответствующие подходы к оптимизации тактики профилактических мероприятий.

4. Назначение антиоксидантной терапии (α-липоевая кислота) пациентам с сахарным диабетом 1 типа обеспечивает снижение значений показателей

эндогенной интоксикации, рост уровня общей антиоксидантной активности крови, глутатионзависимых ферментов на стадии А1 и снижение концентрации первичных продуктов липопероксидации, восстановленной и окисленной форм глутатиона на стадии А2.

**Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Подтверждением достоверности полученных результатов являются достаточный объём наблюдений, выполненных с использованием современных лабораторных методов исследования, сертифицированного оборудования и реактивов. Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакета современных статистических компьютерных программ.

Основные результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на: 86-й Всероссийской Байкальской научно-практической конференции молодых учёных и студентов с международным участием, посвящённой 100-летию ИГМУ «Актуальные вопросы современной медицины» (Иркутск, апрель 2019 г.); 12th International Conference on Advanced Technologies & Treatments for Diabetes (Берлин, Германия, 20–23 февраля 2019 г.); 13th International Conference on Advanced Technologies & Treatments for Diabetes (Мадрид, Испания, 19–22 февраля 2020 г.); IV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, октябрь 2020 г.); 14th International Conference on Advanced Technologies & Treatments for Diabetes (2–5 июня 2021 г.); 2nd Online International Conference on Diabetes and Endocrinology (29 ноября 2021 г.); The Society for Redox Biology and Medicine’s 28th Annual Conference (15–18 ноября 2021 г.); VII Всероссийской научно-практической конференции «Молодые учёные России» (Пенза, июнь 2021 г.); 15th International Conference on Advanced Technologies & Treatments for Diabetes (Барселона, Испания, 27–30 апреля 2022 г.).

**Личный вклад автора**

Личный вклад автора состоит в наборе и обследовании пациентов, проведении информационно-патентного поиска, получении исходных данных, статистической обработке и интерпретации полученных данных, апробации результатов исследования на конференциях различного уровня, подготовке публикаций по выполненной работе и оформлении текста диссертации.

**Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 13 печатных работ, из них 11 – в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ, из которых 10 работ – в рецензируемых изданиях, индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus.

**Структура и объем и диссертации:**

Диссертационная работа изложена на 125 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы с результатами собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы (74 отечественных и 152 иностранных источника). Текст работы иллюстрирован 15 таблицами и 17 рисунками.

# ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ ФОРМИРОВАНИЯ НЕФРОПАТИИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1 ТИПА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

## 1.1 Основные аспекты этиопатогенеза диабетической нефропатии при сахарном диабете 1 типа

Сахарный диабет – заболевание, занимающее одну из лидирующих позиций среди нозологий, вызывающих развитие сосудистых катастроф и формирование инвалидности у людей по всему миру. Распространённость СД ежегодно растёт, приобретая масштабы пандемии [55]. Одна из основных проблем СД – гипергликемия, формирующаяся на фоне дефицита секреции инсулина или дефекта его действия либо обоих этих факторов [18]. Несмотря на единое название, нозология СД объединяет в своей классификации несколько типов диабета, различных по этиологическим факторам, патогенезу, клиническим проявлениям, а также тактике ведения пациентов [55, 87, 99, 127] (Таблица 1).

Сегодня медицинскому сообществу во всём мире всё чаще приходится обращаться к патогенетическим тонкостям мультифакторного процесса формирования гипергликемии при СД для постановки правильного диагноза и выбора верной тактики ведения пациентов. В рамках структуры СД 1 типа ведущее место занимает иммуноопосредованный СД, являясь аутоиммунным полигенным заболеванием, характеризующимся абсолютным дефицитом инсулина вследствие деструкции β-клеток поджелудочной железы [81, 150, 161].

Таблица 1 – Классификация сахарного диабета
(Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ), 1999 г.) [26]

| Типы сахарного диабета | Характеристики |
|---|---|
| Сахарный диабет 1 типа:<br>• иммуноопосредованный;<br>• идиопатический | Деструкция β-клеток поджелудочной железы, обычно приводящая к абсолютной инсулиновой недостаточности |
| Сахарный диабет 2-го типа | • с преимущественной инсулинорезистентностью и относительной инсулиновой недостаточностью или<br>• с преимущественным нарушением секреции инсулина с инсулинорезистентностью или без неё |
| Другие специфические типы сахарного диабета | • генетические дефекты функции β-клеток;<br>• генетические дефекты действия инсулина;<br>• заболевания экзокринной части поджелудочной железы;<br>• эндокринопатии;<br>• СД, индуцированный лекарственными препаратами или химическими веществами;<br>• инфекции;<br>• необычные формы иммунологически опосредованного СД;<br>• другие генетические синдромы, иногда сочетающиеся с СД |
| Гестационный сахарный диабет | |

Первым этапом патогенеза СД 1 типа можно назвать генетическую детерминированность, связанную с наличием у пациентов определённых аллелей в системе HLA: наличие гаплотипов HLA-DR3, DQB1*0201 (DR3-DQ2) или HLA-

DR4, DQB1*0302 (DR4-DQ8) характерно практически для 90 % пациентов [150, 156, 211]. Развитию аутоиммунного процесса при СД способствуют различные триггерные факторы, в качестве которых могут выступать инфекционные факторы воздействия – вирусные (аденовирусы, ретровирусы, энтеровирусы и т. д.) и бактериальные заболевания; неинфекционные факторы воздействия – тяжёлые металлы, особенности диеты (соя, коровье молоко, глютен), воздействие лекарств, радиационное влияние; психосоциальные факторы воздействия – стрессы [92, 136, 179, 183, 211]. Перечисленные факторы воздействия приводят к формированию хронического инсулита, приводящего к Т-клеточно-опосредованной деструкции β-клеток [19]. При попадании в кровь компоненты β-клеток становятся аутоантигенами, вызывая каскад реакций, с активацией макрофагов, Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, клеток-киллеров. Наблюдается каскад воспалительных реакций с высвобождением интерлейкинов, γ-интерферона, фактора некроза опухолей. Таким образом, в организме пациента формируются аутоантитела к инсулину, цитоплазме островковых клеток, глютаматдекарбоксилазе, тирозинфосфатазе островковых клеток [70, 156], вследствие чего наблюдается снижение клеточной массы и формирование дефицита инсулина. На момент манифестации СД 1 типа 80–90 % β-клеток уже подвержены деструкции [177], что приводит к абсолютному дефициту инсулина и необходимости инсулинотерапии с первого дня постановки диагноза у данной категории пациентов [136]. Инсулин обладает множеством эффектов на все виды обмена. Основная роль инсулина заключается в регуляции углеводного обмена: инсулин обеспечивает утилизацию глюкозы тканями посредством взаимодействия с рецепторами на клетках; отвечает за метаболизм глюкозы в клетке, активируя ферментные системы; обуславливает образование гликогена и подавление глюконеогенеза в печени [20]. Мощный анаболический эффект инсулина характеризуется влиянием на липидный и белковый обмены в виде активации липогенеза и антилиполитического эффекта посредством торможения необходимой для липолиза аденилатциклазы и снижения циклического аденозинмонофосфата в липоцитах, увеличения синтеза белка [121, 208]. Из-

за отсутствия инсулина при СД 1 типа возникает энергетический голод клеток, требующий поиска альтернативных источников энергии, в качестве которых используются жировая и мышечная ткани [76, 161, 170].

Ввиду перечисленных патогенетических особенностей СД имеет место прогрессивное повышение уровня гликемии, которое усугубляется ещё и активацией контринсулярных гормонов – глюкокортикоидов и глюкагона [39, 159]. Повышение уровня данных гормонов приводит к ещё большему росту гликемии посредством активации глюконеогенеза в печени. Гипергликемия приводит к повышению осмотического давления, вызывая дегидратацию клеток из-за выхода в интерстициальное пространство воды, что сочетается с запуском осмотического диуреза, снижением реабсорбции воды в почечных канальцах и дальнейшим обезвоживанием организма пациента посредством выраженной полиурии [191, 225].

Гипергликемия, активация липолиза и протеолиза, возникающие и из-за отсутствия инсулина как анаболического гормона, и из-за необходимости получения энергии из дополнительных источников, приводят к расщеплению триглицеридов с образованием свободных жирных кислот с последующим формированием кетоновых тел, таких как ацетон, ацетоуксусная кислота, β-оксимасляная кислота, что усугубляет склонность к кетоацидозу [131]. И зачастую при манифестации СД 1 типа пациенты госпитализируются в состоянии прекомы или комы.

На фоне сформированной стойкой гипергликемии у пациентов с СД формируются поздние осложнения: микроангиопатии, макроангиопатии, нейропатия, диабетическая остеоартропатия, синдром диабетической стопы [141, 203]. Микроангиопатия – осложнение СД, при котором происходит поражение капилляров, артериол и венул. К микроангиопатиям при СД относят диабетическую ретинопатию и диабетическую нефропатию [214]. По имеющимся научным данным при СД 1 типа имеется тенденция к формированию именно микроангиопатий [154, 203, 207]. Макроангиопатии характеризуются поражением сосудов крупного и среднего калибра [136]. К данному типу осложнений относятся

цереброваскулярные заболевания, ишемическая болезнь сердца, а также периферические ангиопатии [125, 154]. Диабетическая нейропатия представляет собой очаговое или диффузное поражение автономных или периферических нервных волокон либо сочетанное поражение обоих видов волокон [205]. Синдром диабетической стопы имеет в своей основе сосудистый, нейропатический компоненты, а также изменение костно-суставного аппарата. Диабетическая остеоартропатия представляет собой неинфекционную деструкцию костной и суставной ткани локального характера, в основе которой лежит повреждение нервных волокон микроциркуляторного русла с последующим изменением сосудистого тонуса [23].

Диабетическая нефропатия при СД является одним из самых опасных осложнений, ведущих к ранней гибели пациентов [102, 207]. Распространённость ДН среди пациентов с СД не имеет значительных изменений на протяжении нескольких лет. Так, в 2010 г. распространённость ДН для пациентов с СД 1 типа составляла 28,8 %, для пациентов с СД 2 типа – 8,7 % [51]. При анализе за 2013–2016 гг. выявлено, что у пациентов с СД 1 типа распространённость ДН составляет 23 %, у пациентов с СД 2 типа – 6,9 % [74]. Таким образом, сохраняется чёткая тенденция преобладания СД 1 типа среди пациентов с СД и ДН. Несмотря на имеющиеся алгоритмы скрининга данного осложнения среди больных с СД [44], своевременное выявление ДН остаётся актуальной проблемой. В формировании данного осложнения играют роль гипергликемия, внутриклубочковая гипертензия, дислипидемия и хроническое воспаление [69, 72, 144], а также немаловажную роль в процессе возникновения осложнений СД отводят окислительному стрессу [86, 150].

Патогенез ДН представляет собой сложный полиэтиологический процесс. На сегодняшний день одними из наиболее значимых и изученных факторов, приводящих к формированию ДН, остаются метаболические (гипергликемия, гиперлипидемия) и гемодинамические (внутриклубочковая гипертензия, артериальная гипертензия) [72, 144, 207, 211].

Гипергликемия как один из основных факторов развития ДН вызывает образование конечных продуктов гликирования, приводящих к изменению структуры и функции белков, развитию устойчивых повреждений клеток. При гликозилировании белков базальной мембраны клубочков, а также мезангия происходит изменение зарядо- и размероселективности мембраны клубочков, увеличивается объём мезангиального матрикса и происходит утолщение базальных мембран сосудов [22]. Также утолщение базальной мембраны вызывает фиксация на ней альбумина, IgG, чему способствуют образовавшиеся КПГ [22]. В свою очередь образовавшиеся иммунные комплексы способствуют изменению структуры клубочкового матрикса [186].

Усилению процессов пролиферации и прогрессированию ДН способствует повышение уровня факторов роста, продуцирующихся цитокинами и гликозилированными белками [204]. Также гипергликемия вносит свой повреждающий вклад в снижение активности ферментов, отвечающих за сульфатирование гепарансульфата (ГС), который в свою очередь принимает участие в регуляции пролиферации гладкомышечных клеток, формирует заряд эндотелия и отвечает в том числе за антикоагулянтные свойства стенки сосудов [108]. Нарушение процесса сульфатирования ГС приводит к изменению базальной мембраны, куда встраивается ГС, меняя заряд и зарядоселективность клубочкового фильтра, вызывая повышение проницаемости мембраны и эндотелиальную дисфункцию, что в свою очередь ведёт к формированию и дальнейшему прогрессированию ДН [23]. КПГ при ДН оказывают влияние и на липидный обмен, вызывая гликирование липидов и их окисление, что приводит к нарушению активности и их транспорта [57, 160]. Вслед за этими процессами продолжается поступление в клетки липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и перенасыщение клеток холестерином, а гликозилированные белки сосудистой стенки становятся способны связывать большее количество холестерина ЛПНП (ХС-ЛПНП), чем коллаген здоровых людей [106]. Воздействие КПГ и сформированная эндотелиальная дисфункция при ДН также приводят к повышенному риску тромботической окклюзии капилляров и развитию коагулопатий [79]. Согласно

современной классификации, выделяют три стадии ДН по скорости экскреции альбумина и альбумин/креатининовому соотношению: А1, А2 и А3 [11, 36].

Стадия А1 – экскреция альбумина с мочой составляет менее 30 мг/24 часа, альбумин/креатининовое соотношение менее 3 мг/ммоль или менее 30 мг/г. Данная стадия считается нормой или определяется как незначительное повышение альбуминурии [18, 72]. При отсутствии снижения скорости клубочковой фильтрации (СКФ), т. е. уровня СКФ более 60 мл/мин/1,73 м$^2$, у пациента с СД стадия А1 расценивается как нормальная функция почек, и диагноз диабетической нефропатии не выставляется [18, 72]. При стадии А2 экскреция альбумина с мочой составляет от 30 до 300 мг/24 часа, альбумин/креатининовое соотношение – от 3 до 30 мг/ммоль или 30–300 мг/г [18, 72]. Несмотря на уровень СКФ, данная стадия альбуминурии расценивается как наличие ДН у пациента с СД и считается умеренным повышением альбуминурии [18, 72]. Стадии А3 соответствует экскреция альбумина с мочой более 300 мг/24 часа, альбумин/креатининовое соотношение – менее более 30 мг/ммоль или более 300 мг/г. Стадия А3 определяется как значительное повышение экскреции альбумина с мочой [18, 72]. Стадия А3, как правило, является необратимой, так как к моменту возникновения выраженной альбуминурии 50–70 % ренальной массы уже подверглись склерозированию [18, 55, 214].

В ходе прогрессирования нефропатии количество активно фильтрующих нефронов продолжает снижаться, что приводит к падению СКФ и формированию уремии, поэтому диагностирование ДН на ранней доклинической стадии является важнейшей проблемой, решение которой позволит защитить пациентов от ранней инвалидизации и смерти [171]. Согласно современным данным, у 29,5 % пациентов с СД 1 типа и у 36,9 % пациентов с СД 2 типа наблюдается ДН в стадии А2 [115]. Помимо гломерулосклероза, при ДН происходит тубулоинтерстициальное повреждение почек [6, 84, 90]. Канальцевые изменения возникают вследствие гипергликемии и следующего за ней каскада воспалительных реакций с активацией протеинкиназы С, которая является катализатором для стимуляции синтеза коллагена в почках [190, 201]. Кроме того, при сочетании гипергликемии и

внутриклубочковой артериальной гипертензии, повышении уровня ангиотензина II синтезируется трансформирующий фактор роста-β (ТФР-β), также приводящий к усилению синтеза коллагенов [77, 188], а сам ангиотензин II способствует гибели тубулоинтерстициальных клеток [6, 91, 96]. Формирование канальцевой дисфункции, вероятно, опережает повреждение клубочкового аппарата [78]. Дополнительным повреждающим фактором канальцев служит усиленная фильтрация белков плазмы, в результате чего возникает «порочный круг», при котором тубулоинтерстициальное повреждение является процессом, провоцирующим нарушение работы гломерул, а на этом фоне усугубляется дисфункция канальцевого аппарата [191]. Известно, что в условиях своевременно назначенной нефропротективной терапии стадия А2 ДН способна к процессу регресса (ремиссии) [102]. Эти данные подтверждены в нескольких исследованиях. Так, в исследовании S. Araki и соавт. принимали участие 216 пациентов с СД 2 типа, среди которых за период 6-летнего наблюдения частота регресса составила 51,0 % [115]. В STENO-2 исследовали 151 пациента с СД 2 типа и ДН в стадии А2 в течение 7 лет: у 46 (30,4 %) пациентов также был выявлен регресс до стадии А1 [184]. В исследовании Kashiwa Study принимали участие 273 пациента с СД 2 типа в течение 8 лет. Среди обследуемых у 94 пациентов наблюдалась ДН в стадии А2, регресс которой на фоне коррекции углеводного обмена и контроля артериального давления зафиксирован у 42 (44,7 %) пациентов [223]. В исследовании EURODIAB в течение 7 лет принимали участие 352 пациента с СД 1 типа, среди которых регресса до А1 на фоне коррекции углеводного обмена достигли 178 (50,6 %) пациентов [117]. В данном исследовании пациенты не были скомпрометированы дополнительным фактором риска в виде артериальной гипертензии. При изучении современных литературных данных всё более часто приходится сталкиваться с понятием «нормоальбуминурической» нефропатии [51, 56], при которой пациентам не назначается нефропротективная терапия. Вопрос о том можно ли предотвратить формирование данной стадии, необходимо ли выставлять диагноз ДН пациентам с А1, вносить коррективы в правила формулировки диагноза ДН при СД, является очень актуальным на сегодняшний

день. По имеющейся классификации, представленной выше, ДН в стадии А1 при сохранной СКФ не рассматривается врачебным сообществом как этап повреждения почки у пациента с СД, не выносится как диагноз, а следовательно, таким пациентам не назначается нефропротективная терапия [18, 72]. Закономерно возникает вопрос о том, возможно ли прогнозировать возникновение в будущем стадии А2 у пациентов, имеющих на сегодняшний день экскрецию альбумина с мочой и альбумин/креатининовое соотношение, соответствующие параметрам стадии А1; а если да, то какие маркеры почечного повреждения способны выступать в качестве наиболее ранних и достоверных.

Таким образом, используемые на сегодняшний день диагностические маркеры ДН, вероятно, не позволяют выявлять данное осложнение на самых ранних стадиях, а значит не дают возможность достичь ремиссии у большинства пациентов с ДН даже при назначении нефропротективной терапии и достижении оптимального гликемического контроля. Нерешённой остаётся задача поиска и активного изучения более ранних и более информативных маркеров почечного повреждения при СД, выявление которых у пациентов уже на стадии А1 даст необходимый вектор превентивной работы врачебному сообществу с данной когортой пациентов. Главной целью поиска данных диагностических маркеров является ранняя диагностика ДН, предотвращение её прогрессирования и перехода в стадии А2 и А3.

## 1.2 Современные маркеры почечного повреждения при формировании диабетической нефропатии

На сегодняшний день для диагностики повреждения почек при СД в клинической практике активно используются определение уровня сывороточного креатинина, альбуминурии, расчёт СКФ, определение отношения альбумина к креатинину [64, 110]. Однако эти показатели подвержены влиянию различных факторов: уровень сывороточного креатинина и альбуминурии могут транзиторно повышаться при кетоацидозе, высокобелковой диете, повышенных физических нагрузках; снижение СКФ может носить временный характер при мочевой

инфекции, декомпенсации СД, лихорадке [51, 73, 146]. Стойкое же снижение СКФ возникает, если потеряна большая масса работающих нефронов, и почечная дисфункция носит необратимый характер [8]. Недостаток уровня креатинина – отсутствие его изменений при гиперфильтрации – также является показателем патологических изменений в почках [70].

Задача современной диабетологии заключается в выявлении более чувствительных и специфичных маркеров раннего повреждения почек ещё на доклинической стадии, что позволит своевременно назначать нефропротективную терапию с целью влияния на процесс формирования почечной недостаточности. На сегодняшний день перспективными для дальнейшего изучения и возможностей ранней диагностики считаются различные маркеры повреждения подоцитарного звена, тубулярного и клубочкового аппаратов почек [58, 75, 161, 224].

**Коллаген IV типа.** Одним из изучаемых маркеров почечного повреждения является коллаген IV типа, который является одним из компонентов мезангиального матрикса клубочков и обеспечивает механическую стабильность мембраны. Тенденция к повышенной экскреции коллагена IV типа наблюдается у пациентов с СД в стадию А1 и увеличивается при дальнейшем прогрессировании ДН [37, 68, 137]. Однако изменение уровня данного маркера отмечается при артериальной гипертензии [82]. Схожие данные получили T. J. Cawood и соавт.: ими был выявлен повышенный уровень в группах пациентов с ДН в стадиях А1 и А2 [84]. Имелась прямая корреляционная связь уровня данного маркера и СКФ у пациентов с ДН в стадии А2 так же, как и в группе контроля [82, 115]. Определение коллагена IV типа вызывает опасение о ложноположительных результатах, т. к. зафиксировано его повышение у пациентов с АГ, а также отсутствие чётких отличий среди групп пациентов с СД и ДН в стадии А1 в сравнении с контрольной группой, что, несомненно, компрометирует данный маркер.

**Цистатин С.** В качестве маркера, способного участвовать в более достоверном расчёте СКФ, чем креатинин, предлагается цистатин С. При сравнении уровня СКФ, рассчитанного по цистатину С и креатинину,

выявлено, что разница между этими показателями может составлять от 11–19 мл/мин/1,73 м$^2$ и более [94]. Выявлена взаимосвязь массы тела пациентов и уровня данного белка в крови, что значительно ограничивает его использование у пациентов с морбидным ожирением [68]. Вероятно, данный маркер можно рекомендовать для более точного расчёта СКФ, однако это не может быть единственным диагностическим критерием ДН.

**Е-кадгерин**, ранее известный только как онкомаркер при поражении толстой кишки и молочной железы, может повышаться у пациентов с СД и ДН в стадии А2 [141]. Однако он не проявил себя как параметр, который можно использовать для диагностики стадии А1, и на сегодняшний день большей информативностью он обладает в качестве маркера рака у пациентов с СД [91].

**ICAM-1.** В составе базальной мембраны клубочка имеются различные виды гликозаминогликанов, один из них – гепарансульфат, ICAM-1 [172]. В ряде работ показана взаимосвязь изменения уровня ICAM-1 в крови и уровня экспрессии ICAM-1 в почках [161]. Среди пациентов с СД 1 типа повышение данного маркера было зафиксировано у имевших стадию А3, однако не отмечалось статистически значимых различий между пациентами со стадией А1 и контрольной группой здоровых лиц [37].

**Уромодулин** – белок, секретирующийся в мочу у здоровых лиц. Зафиксировано прогрессивное снижение экскреции уромодулина с мочой у 62,5 % пациентов по сравнению с 20 % в контрольной группе лиц, имеющих недиабетический генез нефропатии [184]. Использование маркера также требует дополнительного изучения: вероятно, необходима оценка изменений данного показателя в сравнении с контрольной группой здоровых лиц для ответа на вопрос о специфичности изменений при СД и ДН.

Белок **нефрин** также может выступать в качестве маркера ДН [174, 217]. В норме нефрин является частью подоцитов, участвующих в формировании фильтрационного барьера. Увеличение количества нефрина в моче является следствием разрушения подоцитов при возникновении подоцитопатий различного генеза [22]. При исследовании уровня нефрина у 381 пациента с СД выявлена связь

со снижением уровня СКФ и соотношением альбумина к креатинину [155]. При исследовании данного маркера у пациентов с СД практически не было выявлено разницы между группами пациентов со стадиями А1 и А2 [196].

Печёночная форма белка, связывающего жирные кислоты (**L-FABP**, liver-type fatty acid binding protein), – белок с молекулярной массой 15 кДа. По результатам исследования зафиксирован прогрессивный рост L-FABP у пациентов с СД: уровень мочевого L-FABP увеличивался соответственно стадии нефропатии [134].

В ряде исследований трансформирующий фактор роста β (**ТФР-β**) показал себя как маркер, экскреция которого повышается при формировании фиброзирующего процесса в почечных клубочках [6], при формировании ДН в стадиях А2 и А3 у пациентов с СД в сравнении с контрольной группой здоровых лиц [109].

На поверхности подоцитов экспрессируется **подокаликсин** – белок с молекулярной массой 140 кДа, имеющий отрицательный заряд и являющийся белком мембраны подоцитов [69, 216, 219]. Учитывая, что одним из процессов, происходящих при повреждении клубочка, является снижение адгезии подоцитов к базальной мембране, в моче, куда попадают и клетки, увеличивается количество подоцитов уже подвергшиеся апоптозу, а также жизнеспособных [176, 219]. Подоциты являются дифференцированными эпителиальными клетками, образующими первичную структуру клубочкового фильтрационного барьера [95] Подокаликсин играет одну из ведущих ролей при регулировании проницаемости фильтрационного барьера клубочков [107, 217нефробиопс]. При анализе данных 32 пациентов с СД и ДН в сравнении с контрольной группой было выявлено повышение данного маркера в группе пациентов с СД: 53,19 ± 14,29 против 0 μ г/мг ($p < 0{,}01$) [221]. Далее в данном исследовании было рассчитано соотношение подокаликсина к уровню креатинина в моче; в результате проведённого анализа выявлена положительная корреляционная связь между уровнем подокаликсина и подокаликсин/креатининовым соотношением в моче ($r = 0{,}534$; $p = 0{,}002$). Уровень подокаликсина также коррелировал с уровнем гликозилированного

гемоглобина [222]. При изучении данного маркера выявлено, что среди пациентов с СД на стадии А1 его количество увеличивается у 53,8 %, на стадии А2 – у 64,7 %, на стадии А3 – у 66,7 %, но не было отмечено корреляции между уровнем подокаликсина и СКФ [91]. При проведении нефробиопсии и изучении экспрессии подокаликсина у 32 пациентов с СД были сформированы две группы, согласно степени экспрессии данного маркера: группа с высокой экспрессией (интенсивность ++ или +++; $n = 18$) и группа с низкой экспрессией (интенсивность +; $n = 14$). В обеих группах зафиксировано тем большее снижение уровня экспрессии подокаликсина, чем больше была длительность СД: 50,5 (30,5–72,8) и 78 (47,7–95,5) месяцев для двух групп соответственно. Также зафиксирован более высокий уровень гликозилированного гемоглобина в группе с низкой интенсивностью по сравнению с группой с высокой интенсивностью: 8,25 ± 0,58 и 6,98 ± 0,86 % для двух групп соответственно ($p < 0,001$). Также зафиксированы изменения между уровнем СКФ: 94,8 ± 16,2 и 74,1 ± 13,5 мл/мин/1,73 м$^2$ для двух групп соответственно. Выявлена отрицательная корреляционная связь между уровнем подокаликсина и уровнем альбумина в плазме крови и между уровнем подокаликсина и уровнем СКФ [101]. Полученные результаты позволяют предполагать, что возможно перспективное использование подокаликсина как маркера ДН. Однако в проведённом исследовании большая часть выводов строится на данных полученных после нефробиопсии – методе, который труднодоступен в реальной рутинной клинической практике для врачей амбулаторного звена [176, 185, 226].

Сегодня необходимо более детальное изучение подокаликсина, в том числе неинвазивными методами, для расширения возможности применения данного параметра для своевременной диагностики ДН. Требуется более глубокое изучение изменений данного маркера для точного ответа на вопрос, может ли его повышение являться предиктором почечного повреждения при СД и на какой стадии ДН возможно выявить диагностически значимый уровень подокаликсина. Также необходимо выявление взаимосвязей данного параметра с другими показателями, характеризующими изменение почки при СД.

**β2-микроглобулин**. Ещё одной белковой молекулой, вероятно, являющейся перспективной для ранней диагностики ДН, является β2-микроглобулин, который фильтруется капсулами клубочка. Далее происходит его реабсорбция с последующей метаболизацией в проксимальных канальцах, поэтому при нормальной функции почек количество β2-микроглобулина в моче является минимальным [147]. Повышение его уровня в плазме может являться свидетельством дисфункции капсул почечного клубочка; в моче концентрация данного маркера, как правило, увеличивается при нарушении работы почечных канальцев, свидетельствуя о патологии почечной фильтрации [147, 182]. Одним из факторов, позволяющих β2-микроглобулину раньше, чем альбумину, проникать через фильтрационный барьер, является малая молекулярная масса в сравнении с массой альбумина (69 кDa). В имеющихся исследованиях выявлено, что уровень экскреции β2-микроглобулина у пациентов с СД 1 типа выше, чем у людей, не имеющих СД [147]. Это подтвердили M. B. Monteiro и соавт. при исследовании β2-микроглобулина у 51 пациента с СД 1 типа в сравнении со здоровыми лицами [83]. Также выявлена положительная корреляция β2-микроглобулина с уровнем креатинина крови [170] и отрицательная корреляция с СКФ. При исследовании M. K. Kim и соавт. β2-микроглобулина в сыворотке крови у 366 пациентов с СД 2 типа было выявлено увеличение уровня данного маркера у пациентов с ДН по мере прогрессирования данного осложнения [147]. X. Zeng и соавт. при изучении β2-микроглобулина у 46 пациентов подтвердили его взаимосвязь с канальцевыми повреждениями при последующей почечной биопсии: у 30 пациентов в исследовании был повышен уровень данного маркера, канальцевые изменения обнаружены у 100 % данных пациентов при биопсии [157, 218].

В последнее время в качестве маркеров ДН рассматриваются также **показатели окислительного стресса** [17, 103, 162, 164, 198]. Известно, что продукты окислительного повреждения способны вызывать модификацию белков, липидов и ДНК, сохраняющуюся даже при стабилизации уровня гликемии и достижении целевых параметров гликемического контроля [40, 52, 71, 171, 212]. Последние способны длительно сохраняться в сосудах, что в сочетании с

вышеописанными механизмами патогенеза ДН вызывает формирование выраженных дизрегуляционных процессов у больных СД [52, 71, 98].

Увеличение количества АФК, накопление продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), снижение уровня α-токоферола, угнетение ферментативного звена антиоксидантной защиты (АОЗ) является глобальным провоцирующим фактором формирования почечной недостаточности [165, 200]. В проведённых исследованиях при оценке α-токоферола в качестве показателя работы системы ОАЗ у пациентов с ДН зафиксировано статистически значимое снижение данного показателя [64].

Таким образом, среди большого количества изучаемых почечных биомаркеров актуальным является выявление наиболее чувствительных и специфичных, имеющих диагностическую ценность ещё на доклинических стадиях развития диабетической нефропатии. Учитывая, что гломерулярное и тубулярное повреждения являются одними из основополагающих компонентов патогенеза при формировании ДН, вероятно, подокаликсин и β2-микроглобулин могут рассматриваться как одни из наиболее ранних и информативных маркеров почечного повреждения при СД.

### 1.3 Окислительный и карбонильный стрессы как ключевые механизмы формирования диабетической нефропатии

Считается постулатом, что большая часть потребляемого организмом кислорода (около 90 %) является вовлечённой в реакции окислительного фосфорилирования. Вместе с тем имеют место иного рода реакции – с образованием активных форм кислорода [192-194]. АФК представлены супероксидным анион-радикалом, перекисью водорода, гидроксильным радикалом и т. д. [63, 195]. В норме они необходимы для многих функций, в том числе при синтезе жизненно важных ферментов, реализации активности иммунной системы и её компонентов (нейтрофилов, макрофагов) [173, 194] АФК оказывают выраженное бактерицидное и противоопухолевое действие,

необходимы для активации транскрипционных факторов, участвующих в экспрессии генов [145].

Однако помимо положительного действия, АФК (обычно в избыточном количестве) могут оказывать и негативное влияние на различные биоструктуры клетки [32, 38, 173, 195, 212]. Последствия воздействия АФК крайне разнообразны и сопровождаются целым рядом патологических явлений, к которым относятся изменения структуры и жёсткости мембран, нарушения мембранного транспорта, модификация и фрагментация белков, нарушения их функциональной активности [168]. В результате отмечают окислительную модификацию липидов (когда действие АФК оказывается на полиненасыщенные жирные кислоты), белков (когда действие АФК проецируется на аминокислоты; при этом происходит накопление карбонильных групп белков – так называемый карбонильный стресс), ДНК (действие АФК на нуклеотиды; образуется токсичный продукт – 8-гидрокси-2’-деоксигуанозин (маркер повреждения ДНК)) [15, 29, 40, 53].

Одним из свойств АФК является их способность инициировать перекисное окисление жирных кислот и жирнокислотных остатков в составе липидов биомембран клеток, а также холестерина и липопротеидов плазмы крови (процессы ПОЛ) [150]. ПОЛ представляет собой типовой процесс, необходимый для поддержания гомеостатических реакций, сохранения постоянства состава мембран, обезвреживания патогенных веществ и продуктов метаболизма и др. [1]. ПОЛ принимает участие в адаптационных реакциях и выступает в качестве «первичного медиатора стресса». На первом этапе реакций ПОЛ происходит образование первичных продуктов – диеновых конъюгатов (ДК), участвующих в регуляции клеточной пролиферации, проницаемости мембран и т. д. [35]. При дальнейшем взаимодействии с кислородом происходит образование кетодиенов и сопряжённых триенов (КД и СТ), являющихся вторичными продуктами ПОЛ; далее образуются конечные продукты: шиффовы основания – продукты полимеризации-поликонденсации липидов, а также продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой – ТБК-активные продукты (ТБК-АП) или малоновый диальдегид [12,197, 206]. Установлено, что продукты ПОЛ могут

ингибировать синтез ДНК и таким образом контролировать размножение клеток и рост организмов, участвовать в регулировании проницаемости и состава мембран. Отмечено, что низкомолекулярные альдегиды (2-алкенали, 4-гидроксиалкенали) оказывают существенное влияние на активность фагоцитов, в том числе ингибируя развитие дыхательного «взрыва», фагоцитоз в моноцитах и нейтрофилах [1, 42].

Отрицательное воздействие ОС не только проявляется в повреждении липидных и белковых молекул, но и характеризуется повреждением нуклеиновых кислот за счёт модификации нуклеиновых оснований [167]. По накоплению продуктов окисления последних, в частности гуанозина, можно судить о степени влияния окислительных повреждений на генетический аппарат клетки [29]. В условиях сформированного ОС происходит изменение макромолекул, в том числе ДНК, характеризующееся деструкцией нуклеиновых кислот с формированием конечного продукта – 8-OH-2-дезоксигуанозина, по уровню которого можно судить о глубине и масштабе произошедших изменений [113, 175, 167]. Повреждение ДНК на фоне ОС может приводить к ускорению укорочения теломер, ингибированию метилирования, преждевременному клеточному старению, запускать апоптотические изменения в клетке [113]. В рамках оценки карбонильного стресса важным параметром является метилглиоксаль, представляющий собой α-кетоальдегид эндогенной природы [16, 98]. При равновесии в системе ПОЛ–АОЗ количество МГ стабильно благодаря участию глутатиона, а при дизрегуляции механизмов АОЗ, что характерно для пациентов с СД, уровень МГ повышается, что приводит к изменению внутриклеточных процессов, в том числе к ингибированию синтеза белка, с последующими необратимыми изменениями в виде апоптоза или некроза клеток. Образование карбонильных соединений, к которым относится и МГ, происходит в условиях активности свободнорадикальных реакций в клетках, которые имеют место при ОС, что обеспечивает тесную связь между ОС и карбонильным стрессом [98].

В нормальных, физиологических условиях активность реакций окислительного повреждения биосубстратов (или свободнорадикального

окисления (СРО)) регулируется системой антиоксидантной защиты [10,54]. Термин «антиоксидант» в настоящее время может быть применён для любого вещества, наличие которого даже в минимальной концентрации подавляет или задерживает окисление субстрата [209].

Существуют ферментативное и неферментативное звенья АОЗ, подавляющие окислительную атаку [202]. К ферментам, оказывающим первичную АОЗ, относят супероксиддисмутазу (СОД) [169, 172].

Функция СОД заключается в нейтрализации АФК с помощью обмена своего атома водорода с кислородом свободных радикалов [24, 34]. Имеются три формы СОД, находящиеся в организме: СОД 1 находится в цитоплазме и содержит медь; СОД 2 находится в митохондриях и содержит магний; СОД 3, являющаяся внеклеточной формой, содержит медь и цинк [119, 120, 178]. Перекись водорода расщепляется до воды ферментами каталазой или селен-зависимой глутатионпероксидазой (ГПО) (тетрамерный селенопротеин) [67]. При недостатке селена активность АОЗ снижается. Активность ГПО зависит от наличия глутатиона (GSH), который восстанавливается НАДФН-зависимым ферментом глутатионредуктазой (ГР) до восстановленной формы или синтезируется преимущественно в печени глутатионсинтетазой [64]. ГПО восстанавливает гидроперекиси фосфолипидов, свободных жирных кислот, в большом количестве содержится в печени, эритроцитах, хрусталике глаза [105]. У человека различают 8 форм ГПО, наиболее распространённой является ГПО 1 – тетрамерная форма, содержащая селен в активном центре, что и обеспечивает антиоксидантную функцию [63]. ГР и NADP-H восстанавливают окисленный глутатион. Вместе GSH, ГПО, ГР и NADP-H являются глутатионовой антиоксидантной системой, способной к эффективной защите от окислительного стресса [105].

Неферментативное звено системы АОЗ представлено низкомолекулярными антиоксидантами: жирорастворимыми (токоферолы, токотриенолы, убихинон, тканевые липиды, ретинол, витамин К) и водорастворимыми (аскорбиновая кислота, рутин, глутатион, стероидные гормоны, катехоламины, альбумин и др.) соединениями [151]. Также инактивируют АФК и ингибируют образование

вторичных радикалов биофлавоноиды – рутин, кверцетин, цитрин, гесперидин, аскорутин; серосодержащие аминокислоты; молочная и мочевая кислоты и др. [41, 62].

GSH является основным клеточным тиоловым окислительно-восстановительным буфером в клетках, синтезируется в цитозоле из L-глутамата, L-цистеина и глицина, выступает субстратом для ГПО и глутатион-S-трансферазы (Г-S-Т), способствует нормальному осуществлению транспорта и сохранению целостности мембран [104]. Глутатион относится к основным звеньям антиоксидантной защиты, участвует в детоксикации продуктов метаболизма, регулирует обмен медиаторов воспаления, влияет на активность ферментов, ксенобиотиков, биосинтез нуклеиновых кислот [17]. GSH содержит тиоловую группу, чем и определяется его антиоксидантная активность, проявляющаяся в инактивации свободных радикалов внутри клетки [63]. GSH участвует в большом количестве реакций детоксикации, образуя дисульфид глутатиона, который превращается обратно в GSH под действием ГР за счёт НАДФН [63]. Г-S-Т осуществляет контроль над уровнем липопероксидов, участвует в процессах утилизации многих чужеродных и токсичных соединений посредством присоединения глутатиона [142, 166, 199]. Синтез GSH осуществляется с помощью ферментов γ-глутамилцистеинсинтетазы и глутатионсинтетазы, которые участвуют в осуществлении транспорта необходимых аминокислот [104]. Глутатион находится как внутри клетки, так и внеклеточном пространстве, однако, большая его часть сконцентрирована внутри клеток, а внеклеточная низкая составляет 2–20 мкм/л (6 мкм/л, 1,8 нг/мл) [63]. В организме глутатион содержится в двух формах: окисленной в виде дисульфидов (GSSG) и восстановленной (GSH), или свободной, в виде сульфгидрильных групп (GSHfree), который и составляет основу антиоксидантной защиты глутатиона. При ОС уровень GSH снижается, а концентрация GSSG повышается [124, 212].

α-токоферол и ретинол являются жирорастворимыми витаминами и относятся к биоантиоксидантам, способным перехватывать органические радикалы на уровне клеточных мембран [43, 70]. α-токоферол встраивается

в мембрану клеток, где обменивается ионом водорода со свободными радикалами, поддерживая стабильность клеточных мембран, тормозя активацию ПОЛ [26, 70]. Отдавая ион водорода, молекула α-токоферола подвергается окислению, для продолжения мембранпротективной работы данного антиоксиданта необходимо его восстановление, что осуществляется с помощью аскорбата и ретинола [1, 31, 43]. Ретинол также относится к природным антиоксидантам, способен ингибировать радикальное окисление [1, 40]. Какое-либо изменение уровня данных компонентов системы АОЗ необходимо расценивать в том числе в качестве биомаркеров ОС.

Срыв в системе АОЗ характеризуется развитием свободнорадикальных повреждений разных компонентов клетки и тканей, составляющих синдром гиперпероксидации, и трактуется как ОС [10].

ОС играет одну из важнейших ролей в формировании СД и его осложнений [84]. Одними из главных механизмов, связанных с реакциями ОС при СД, являются усиленное образование конечных продуктов гликозилирования, гликолитический и гексозаминовый пути, активация протеинкиназы С, полиоловый путь и деактивация сигнального пути инсулина [57, 190, 153]. Чрезмерное образование АФК ведёт за собой каскад реакций с накоплением поли-АДФ-рибозо-полимеразы 1 (ПАРП1) и снижением уровня глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (ГА3Ф), вызывающий повышение промежуточных продуктов гликолиза, аутоокисление глюкозы с образованием перекиси водорода, усугубляющей ОС [124]. Полиоловый путь окисления глюкозы характеризуется активацией фермента альдозоредуктазы и повышением уровня сорбитола с последующим переходом во фруктозу, что вызывает порочный круг, повышая уровень ГА3Ф, а значит усиливая ОС [124]. Дополнительный вклад в прогрессирование ОС альдозоредуктаза вносит и посредством снижения НАДФН, а значит имеет негативное влияния на систему глутатиона. Для гексозаминового пути окисления глюкозы характерно увеличение уровня фруктозо-6-фосфата (Ф-6-Ф) с переходом в глюкозамин-6-фосфат, с последующим превращением в уридинфосфат-N-ацетилглюкозамин, что способствует высокой

активности О-глюкозамин-N-ацетилтрансферазы, обладающей прооксидантной ролью гексозаминового пути при СД [124]. На фоне активации данного фермента происходят изменения экспрессии генов, ингибирующих митогенез мезангиальных клеток, что приводит к пролиферации коллагенового матрикса и утолщению базальной мембраны [212].

Таким образом, в рамках гексозаминового пути при СД все вышеперечисленные параметры ответственны за токсическую и прооксидантную роль и являются непосредственными участниками формирования поздних сосудистых осложнений при СД, особенно нефропатии [210].

Образование свободных радикалов при СД путём окисления глюкозы и повышения ПОЛ приводит к повреждению ферментов, клеточного содержимого, а также к повышенной резистентности к инсулину из-за ОС [122]. Дополнительным звеном патогенеза СД может быть развитие ОС, происходящего непосредственно в области самой поджелудочной железы, что вызывает повреждение β-клеток и приводит к снижению секреции инсулина [122]. Учитывая, что в β-клетках снижено содержание антиоксидантных ферментов в сравнении с другими клетками, отмечается их повышенная чувствительность к атаке свободных радикалов [94]. Также активное участие в гибели β-клеток отводится оксиду азота (NO) [78]. Известно, что у пациентов с СД 1 типа, не имеющих поздние осложнения, фиксируется повышенная генерация ДК и ТБК-активных продуктов ПОЛ, снижение антиокислительной активности [45, 112, 161]. Чрезмерное образование продуктов ПОЛ при СД приводит к повреждению биомембран клеток, эндотелия сосудов, играет важнейшую роль в формировании поздних сосудистых осложнений при СД [25, 116, 187]. С течением времени при СД возможно также гликозилирование самих антиоксидантных ферментов, что приводит к потере их антигенных свойств и инактивации [114, 143]. ОС может играть непосредственную роль в формировании поздних осложнений СД, таких как ишемическая болезнь сердца, нейропатия, нефропатия, ретинопатия и инсульт [52, 167, 187194].

В рамках формирования ДН одну из ключевых ролей также играют ферменты NOX, являющиеся основными источниками СР. Изменённая активность ферментов NOX повышает уровень провоспалительных маркеров, в том числе TGF-β, фактора некроза опухоли α (TNF-α, tumor necrosis factor α) и т. д., что вызывает эндотелиальную дисфункцию и системное воспаление [95, 181]. При изучении влияния карбонильного стресса на формирование поздних почечных повреждений в описанных выше проведённых исследованиях была установлена связь между уровнем 8-OHdG и хроническими заболеваниями почек или терминальной почечной недостаточностью (ТПН) по сравнению с группой здоровых лиц. У пациентов с СД 1 типа, наблюдавшихся в течение 6 лет, получены данные, свидетельствующие о сильных и независимых ассоциациях высокого уровня 8-OHdG в плазме с уровнем альбуминурии и СКФ, а также о риске развития ТПН [175]. Полученные данные говорят о вероятной возможности использования 8-OHdG в плазме как маркера прогрессирования заболеваний почек у лиц с СД 1 типа. Также установлено, что за эндотелиальное повреждение может отвечать повышенная секреция с мочой 8-OHdG и повышение образования митохондриальной ДНК в клетках клубочков [126]. Дисфункция митохондрий в эндотелиальных клетках клубочков была связана с истощением подоцитов на фоне СД, при этом у пациентов сохранялся уровень альбуминурии, соответствующий стадии А1 [175].

Дополнительную сложность в управлении СД и профилактике поздних осложнений сегодня вызывает феномен «метаболической памяти», когда воздействие АФК приводит к клеточной дисфункции через длительное время после манифестации СД [52]. В проведённых клинических исследованиях установлено, что раннее достижение целевых параметров углеводного обмена при СД способствует органопротекции и замедляет формирование поздних сосудистых осложнений [88]. Если же при манифестации СД у пациентов сохранялась стойкая гипергликемия в течение значительного временного отрезка, достижение целевых параметров гликемии не приводит к замедлению формирования поздних осложнений [213].

Таким образом, поиск более ранних и специфичных маркеров почечных повреждений до сих пор остаётся актуальной проблемой. Данная необходимость обусловлена несовершенными методами диагностики, в частности использованием стандартных нестабильных маркеров. Транзиторные изменения последних могут существенно осложнять диагностику ДН, маскируя проблему снижения почечной функции либо вызывая гипердиагностику ДН. При сохранной функции почек, вероятно, у части пациентов необходимо применять понятие доклинической стадии диабетической нефропатии. Причём становится очевидным, что этот термин необходимо расширить и включить в него пациентов с лабораторными показателями, соответствующими альбуминурии стадии А1. В качестве необходимого вектора своевременной диагностики стоит рассматривать изучение ранних маркеров клубочкового и канальцевого повреждения, повышение уровня которых происходит раньше, чем лабораторные изменения показателей дисфункции. Понимая, что окислительный и карбонильный стрессы представляют собой одно из важнейших звеньев формирования поздних осложнений при СД, изучение взаимодействия данных показателей и ранних маркеров почечного повреждения является перспективным направлением для диагностики такого опасного осложнения, как ДН. Вероятно, своевременная коррекция изменённых компонентов окислительного и карбонильного стрессов, наряду с назначением нефропротективной терапии позволит, предотвращать прогрессирование данного осложнения.

# ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

## 2.1 Объекты и дизайн исследования

Работа выполнена в период с 2018 по 2021 г. на базе ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ) (директор – д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН Л. В. Рычкова) в лаборатории патофизиологии (руководитель лаборатории – д.б.н., профессор РАН М. А. Даренская) в рамках государственной темы «Патофизиологические механизмы и генетико-метаболические предикторы сохранения репродуктивного здоровья и долголетия в различных возрастных, гендерных и этнических группах» (руководитель темы – д.м.н., профессор, академик РАН Л. И. Колесникова). Клиническое обследование пациентов проводилось в эндокринологическом отделении ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак Почёта» областная клиническая больница» (ГБУЗ ИОКБ) (главный врач – к.м.н. П. Е. Дудин).

Методом сплошной выборки из пациентов с СД 1 типа, направленных на плановую госпитализацию в ГБУЗ ИОКБ, были обследованы 69 мужчин молодого репродуктивного возраста от 18 до 40 лет (средний возраст – 31,73 ± 2,59 года) с СД 1 типа и неудовлетворительным гликемическим профилем (основная группа). Контрольную группу составили 28 практически здоровых мужчин того же возраста (средний возраст – 29,71 ± 4,59 года) (контрольная группа).

*Критерии включения в основную группу*: мужской пол; возраст 18–40 лет; информированное согласие пациента на участие в исследовании; проживание на территории Иркутской области; верифицированный диагноз сахарного диабета 1 типа; уровень СКФ 60 мл/мин/1,73 м$^2$ и более.

*Критерии исключения из основной группы:* женский пол; сахарный диабет 2 типа или другие типы сахарного диабета; наличие тяжёлых осложнений сахарного диабета (протеинурия, почечная недостаточность, макрососудистые осложнения); наличие других эндокринных заболеваний; выраженной сопутствующей

соматической патологии; первичные поражения почек (инфекционные, сосудистые, токсические, иммуновоспалительные, опухолевые).

*Критерии включения в контрольную группу:* мужской пол; возраст 18–40 лет; нормальные показатели уровня гликемии; отсутствие наследственной предрасположенности к СД.

*Критерии исключения из контрольной группы:* наличие на момент обследования острых или обострение хронических заболеваний.

При обследовании больных была проведена комплексная оценка клинических и лабораторных данных. Комплексное медицинское обследование пациентов с СД 1 типа проводилось согласно классификации СД (ВОЗ, 1999), диагностическим критериям СД (ВОЗ, 1999–2018), алгоритмам специализированной медицинской помощи больным с сахарным диабетом.

В соответствии с новой классификацией [26], основная группа была разделена на две подгруппы: пациенты с альбуминурией, соответствующей критериям стадии А1 – альбумин в моче менее 30 мг/сут., альбумин/креатининовое соотношение менее 3 мг/ммоль ($n = 35$); пациенты с альбуминурией, соответствующей критериям стадии А2 – альбумин в моче 30–300 мг/сут., альбумин/креатининовое соотношение 3–30 мг/ммоль ($n = 34$). Далее было проведено лечение препаратом с антиоксидантными свойствами как в первой, так и во второй подгруппе пациентов в течение 10 дней.

Все пациенты находись на базис-болюсной инсулинотерапии с использованием аналогов человеческих инсулинов длительного и ультракороткого действия. Схемы (дозы) подбирались каждому пациенту индивидуально. Для антиоксидантного лечения использовался препарат α-липоевой кислоты (Sol. Ac. Thioctici 600,0 + Sol. NaCl 200,0 внутривенно, после завтрака, на протяжении 10 дней). При повторном обследовании после проведённого лечения оценивали динамику изучаемых показателей.

Дизайн исследования представлен на Рисунке 1.

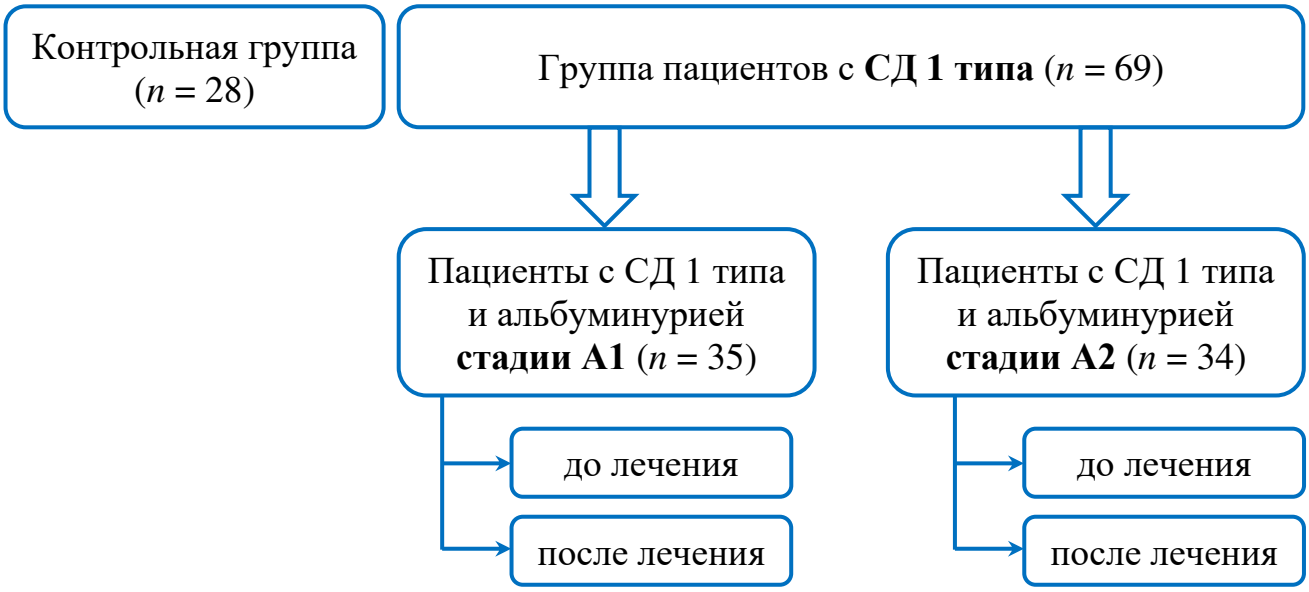


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Все участники подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, в редакции 2013 г.). Исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике при ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (выписка из протокола заседания № 8.2 от 2.11.2018).

Данная работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск).

Основные клинико-анамнестические характеристики исследуемых групп представлены в Таблице 2. По данным параметрам группы А1 и А2 были сопоставимы между собой, за исключением уровня среднесуточной гликемии, значения которой были выше в группе А2 ($p = 0{,}02$) (Таблица 2).

Статистически значимые различия были зафиксированы также в отношении биохимических показателей крови: более низкие уровни креатинина крови в группах А1 ($p < 0{,}0001$) и А2 ($p < 0{,}0001$), общего белка – в группе А1 ($p = 0{,}001$) относительно контроля, более высокие концентрации альбумина – в группе А2 относительно группы А1 ($p < 0{,}0001$) (Таблица 3).

Таблица 2 – Клинико-анамнестическая характеристика больных с СД 1 типа (Me, квартили (25 %–75 %))

| Параметры | Контрольная группа | Группа А1 | Группа А2 |
|---|---|---|---|
| Возраст, годы | 29,5 (25–34) | 27 (22–34) | 30 (27–35) |
| Длительность СД, годы | – | 7,0 (3–10) | 7,28 (3–11) |
| ИМТ, кг/м$^2$ | 21,5 (20,6–22,4) | 21,1 (20,3–23,7) | 21,4 (19,3–24,5) |
| HbA1c, % | – | 10,2 (8,7–11,3) | 11,1 (9,3–13,4) |
| Среднесуточная гипергликемия, ммоль/л | – | 10,5 (9,1–12,7) | 12,3 (10,3–14,8)* |

Примечание: HbA1c – гликозилированный гемоглобин; * – статистически значимые различия между группами А1 и А2

Таблица 3 – Биохимические показатели крови у больных с СД 1 типа (Me, квартили (25 %–75 %)).

| Параметры | Контрольная группа | Группа А1 | Группа А2 |
|---|---|---|---|
| Креатинин крови, мкмоль/л | 100,9 (87,95–107,55) | 80 (70–90)* | 80 (80–90)* |
| Общий белок, г/л | 76,15 (68,70–80,45) | 69,00 (65,0–74,0)* | 76,00 (70,0–78,0) |
| Альбумин, г/д | 42,84 (39,95–43,90) | 43,00 (40,50–46,0) | 44,00 (42,0–48,0)** |
| Мочевина, ммоль/л | 4,55 (3,85–5,45) | 5,2 (4,1–5,9) | 5,2 (4,3–6,2) |

Примечание: * – статистически значимые различия с контрольной группой; ** – статистически значимые различия между группами А1 и А2 ($p < 0,05$)

В группе А1 отмечался рост показателя СКФ в сравнении с контролем ($p < 0,0001$) (Таблица 4). В группе А2 были зафиксированы пониженные значения креатинина мочи ($p = 0,003$), более высокие уровни альбумина ($p < 0,0001$) и соотношения альбумин/креатинин ($p < 0,0001$) в сравнении с контролем (Таблица 4). Межгрупповые отличия характеризовались более высокими значениями альбумина ($p < 0,0001$), соотношения альбумин/креатинин ($p < 0,0001$) и сниженными значениями СКФ ($p = 0,024$) в моче у пациентов группы А2 в сравнении с группой А1.

Таблица 4 – Биохимические показатели мочи у больных с СД 1 типа (Me, квартили (25 %–75 %))

| Параметры | Контрольная группа | Группа А1 | Группа А2 |
|---|---|---|---|
| Креатинин мочи, ммоль/л | 14,85 (13,75–16,3) | 10,2 (6,36–17,6) | 7,0 (4,61–14,3)* |
| Альбумин мочи, мг/г | 12,7 (7,95–16,8) | 7,1 (3,68–11) | 44,3 (24,09–67,8)*; ** |
| Альбумин/ креатинин | 0,94 (0,55–1,1) | 1,15 (0,3–1,6) | 5,8 (3,8–8,9)*; ** |
| СКФ, мл/мин | 87 (78,5–105) | 112 (99–120)* | 101 (89–118)** |

Примечание: * – статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$); ** – статистически значимые различия между группами А1 и А2 ($p < 0,05$)

Согласно полученным данным, в группе А1 были зафиксированы более высокие значения триаглицеридов (ТАГ) ($p = 0,007$) и холестерина липопротеинов очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП) ($p = 0,007$) относительно контроля (Таблица 5). Группа А2 отличалась от контрольных значений также более высокими показателями общего холестерина (ОХС) ($p = 0,001$), ТАГ ($p = 0,022$) и ХС-ЛПОНП ($p = 0,022$). В отношении остальных показателей статистически значимых различий в исследуемых группах выявлено не было ($p > 0,05$) (Таблица 5).

Таблица 5 – Параметры липидного обмена у больных с СД 1 типа (Me, квартили (25 %–75 %))

| Параметры | Контрольная группа | Группа А1 | Группа А2 |
|---|---|---|---|
| ОХС, ммоль/л | 4,21 (3,74–4,58) | 4,4 (3,80–4,90) | 4,65 (4,1–5,5)* |
| ТАГ, ммоль/л | 0,66 (0,47–0,93) | 1,1 (0,9–1,9)* | 1,2 (0,8–2,0)* |
| ХС-ЛПНП, ммоль/л | 2,47 (2,22–0,99) | 2,2 (1,92–2,7) | 2,42 (2,02–2,83) |
| ХС-ЛПВП, ммоль/л | 1,23 (1,0–1,4) | 1,3 (1,0–1,5) | 1,25 (1,0–1,7) |
| ХС-ЛПОНП, ммоль/л | 0,3 (0,21–0,42) | 0,5 (0,4–0,86)* | 0,54 (0,36–0,91)* |

Примечание: ХС-ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности; * – статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$)

Таким образом, в рамках проводимого клинико-анамнестического обследования пациентов было выявлено, что группы А1 и А2 были сопоставимы по ряду показателей, при этом зафиксированы закономерные межгрупповые различия по уровню альбумина в моче и уровню альбумин/креатининового соотношения, что и позволило провести разделение пациентов с СД 1 типа на две группы. У пациентов группы А1, кроме того, было зафиксировано снижение уровня креатинина и закономерное повышение уровня СКФ, что отражает склонность к гиперфильтрации у пациентов с СД 1 типа при нормальной экскреции альбумина с мочой. Изменение параметров липидного обмена имело тенденцию к повышению атерогенных фракций холестерина в обеих группах, что может иметь негативные последствия.

## 2.2 Методы исследования

Для решения поставленных задач использовались следующие методы: анализ медицинской документации; общеклинические методы исследования; лабораторные методы исследования; статистические методы исследования.

### Анализ медицинской документации

Проведён анализ данных медицинских карт стационарного больного (форма № 003, утверждённая Приказом Минздрава СССР № 1030 от 14.10.1980) отделения эндокринологии ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак Почёта» областная клиническая больница».

### Общеклинические методы исследования

Объективный осмотр включал оценку физического развития; измерение роста и веса; расчёт индекса массы тела (ИМТ) предложенный G. Brey (отношение массы тела в килограммах к длине тела в метрах, возведённой в квадрат); измерение артериального давления, температуры тела. Проводилась оценка наличия или отсутствия трофических кожных проявлений.

## Лабораторные исследования

В качестве материала для лабораторных исследований использовали сыворотку, плазму крови и гемолизат, приготовленный из эритроцитов.

Взятие крови совершалось с помощью одноразовых вакуумных систем из локтевой вены после 15-минутного отдыха, натощак, с 8 до 9 часов утра. Сыворотку и плазму крови для исследований получали путём центрифугирования пробирок при 3000 об./мин в течение 10 минут. Полученный биоматериал хранился в одноразовых пробирках типа Eppendorf в морозильной камере при температуре – 80 °С. Размораживание образцов при необходимости производили не более одного раза.

Уровень гликозилированного гемоглобина (HbA1c) определялся на анализаторе D-10 (Bio-Rad, США) с использованием жидкостной ионообменной высокоэффективной хроматографии. Глюкоза капиллярной крови определялась с помощью глюкозооксидазного метода. Анализировался гликемический профиль (глюкоза крови натощак, постпрандиальный уровень глюкозы – через 2 часа после еды). Использованы методы оценки ранних повреждений почек (расчёт СКФ, определение содержания альбумина, соотношения альбумина и креатинина в моче).

Содержание креатинина и альбумина в моче, соотношение альбумина к креатинину в моче определялось на биохимическом анализаторе SYNCHRON CX9 PRO (Beckman Coulter, США) иммунотурбидиметрическим методом. СКФ рассчитывалась по формуле CKD-EPI (мл/мин/1,73 м$^2$).

Содержание ОХС, холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС-ЛПВП) и триацилглицеридов в сыворотке крови определяли с использованием коммерческих наборов «Bio Systems» (Испания). Измерения производили на биохимическом анализаторе SYNCHRON CX9 PRO (Beckman Coulter, США). Уровень ХС-ЛПОНП вычисляли с помощью формулы: ХС-ЛПОНП = ТАГ / 2,2; уровень ХС-ЛПНП = ОХС – (ХС-ЛПВП + ХС-ЛПОНП).

***Определение компонентов окислительного, карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и активности системы антиоксидантной защиты***

Биохимические исследования проводились в лаборатории патофизиологии ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (руководитель лаборатории – д.б.н., профессор РАН М.А. Даренская).

*Определение диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряжённых триенов*

Методика основана на интенсивном поглощении конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов в области 232 нм (ДК), 278 нм (КД и СТ) [14]. Измерения производились на спектрофотометре СФ-2000 (Россия). Для расчёта ДК применяли молярный коэффициент экстинкции: $К = 2{,}2 \times 10^5$ моль$^{-1}$ см$^{-1}$. КД и СТ выражали в усл. ед., ДК – в мкмоль/л.

*Определение ТБК-активных продуктов*

Регистрация ТБК-активных продуктов осуществлялась с использованием набора ТБК-АГАТ (Россия). Измерения производились на спектрофотометре СФ-2000 (Россия). Концентрацию ТБК-АП выражали в мкмоль/л.

*Определение активности супероксиддисмутазы*

Определение активности СОД проводили с использованием коммерческих наборов RANSOD (Randox, Великобритания). Измерения проводили на спектрофлюорофотометре BTS-350 (Испания). СОД выражали в усл. ед.

*Определение активности глутатионредуктазы*

Активность глутатионредуктазы определяли с помощью коммерческих наборов фирмы «Randox» (Великобритания). Проведение реакций и расчёт результатов осуществляли в стандартных условиях, согласно рекомендациям производителя. Измерения проводили на спектрофлуорофотометре BTS-350 (Испания). Активность глутатионредуктазы выражали в усл. ед.

*Определение активности глутатионпероксидазы*

Активность глутатионпероксидазы определяли с помощью коммерческих наборов фирмы «Randox» (Великобритания). Проведение реакций и расчёт результатов осуществляли в стандартных условиях, согласно рекомендациям производителя. Измерения проводили на спектрофлуорофотометре BTS-350 (Испания). Активность глутатионпероксидазы выражали в усл. ед.

*Определение концентрации глутатион-S-трансферазы*

Иммуноферментный анализ концентрации Г-S-Т проводили с использованием набора реактива Immundiagnostik (Германия) на микропланшетном ридере MultiSkan ELX808 (BioTek, США). Концентрацию Г-S-Т выражали в нг/мл.

*Определение общей антиокислительной активности крови*

Определение уровня общей антиокислительной активности (АОА) проводили с использованием коммерческих наборов RANSOD (Randox, Великобритания). Измерения проводили на спектрофлуорофотометре BTS-350 (Испания). АОА выражали в усл. ед.

*Определение α-токоферола и ретинола*

Определение α-токоферола и ретинола проводили флуориметрическим методом [69] на флюорате 02 АБФФ-Т (Россия). Методика предусматривает удаление веществ, препятствующих определению, путём омыления проб в присутствии больших количеств аскорбиновой кислоты и экстракцию неомыляющихся липидов гексаном с последующим флуориметрическим определением содержания α-токоферола и ретинола. В качестве внешнего стандарта используются: D-, L-, α-токоферол фирмы «Serva» и all-trans-retinol фирмы «Sigma». При этом α-токоферол обладает интенсивной флюоресценцией с максимумом возбуждения при $\lambda = 294$ нм и излучения при $\lambda = 330$ нм; ретинол – при $\lambda = 335$ нм и $\lambda = 460$ нм соответственно. Содержание α-токоферола и ретинола выражали в мкмоль/л.

*Определение восстановленного и окисленного глутатионов*

Определение GSH и GSSG проводили флуориметрическим методом [125] на флюорате 02 АБФФ-Т (Россия). Суть методики заключается в способности GSH специфично реагировать с ортофталевым альдегидом при pH = 8,0 с образованием флуоресцентного продукта, который может быть активирован при 350 нм с пиком эмиссии при 420 нм. Определение GSSG проводили аналогично с ортофталевым альдегидом, но в более щелочной среде (pH = 12). Для предотвращения окисления GSH в GSSG в пробы добавлен N-этилмалиенит. Условия регистрации флуоресценции были идентичны. Измерения проводились при λex = 350 нм и λem = 420нм. Концентрацию GSH и GSSG выражали в ммоль/л.

*Определение 8-ОН-2-деоксигуанозина*

Определение концентрации 8-OHdG проводили с использованием набора Assay Designs DNA Damage ELISA Kit (США). Измерения проводили на иммуноферментном анализаторе ELx808 «BioTek» (США). Концентрацию 8-OHdG выражали в нг/мл.

*Определение метилглиоксаля*

Определение концентрации метилглиоксаля проводили с использованием набора Human Methylglyoxal (MGo) ELISA Kit (США). Измерения проводили на иммуноферментном анализаторе ELx808 «BioTek» (США). Концентрацию метилглиоксаля выражали в мг/л.

*Определение среднемолекулярных пептидов*

Оценку значений СМП (СМП 238, СМП 254, СМП 280) проводили с помощью спектрофотометрии [16] Измерения производились на спектрофотометре СФ-2000 (Россия). СМП выражали в усл. ед.

*Определение коэффициента окислительного стресса*

В качестве интегрального показателя сбалансированности системы ПОЛ–АОЗ рассчитывали коэффициент окислительного стресса (КОС), который учитывает накопление первичных, промежуточных и конечных продуктов ПОЛ

и активность различных звеньев АОЗ (ферменты, глутатион, жирорастворимые витамины). Значение КОС > 1 рассматривается как нарастание степени ОС [58].

Для расчёта КОС использовали формулу:

$$\text{КОС} = \frac{(\text{ДК}_i / \text{ДК}_n) \cdot (\text{КД и СТ}_i / \text{КД и СТ}_n) \cdot (\text{ТБК-АП}_i / \text{ТБК-АП}_n)}{(\text{СОД}_i / \text{СОД}_n) \cdot (\text{GSH}_i / \text{GSH}_n) \cdot (\text{E}_i / \text{E}_n) \cdot (\text{A}_i / \text{A}_n)},$$

где *i* – показатели обследуемого пациента; *n* – уровни показателей контрольной группы.

### *Определение маркеров почечного повреждения*

#### *Определение подокаликсина*

Уровень подокаликсина в моче определяли иммуноферментным методом с помощью коммерческого набора Podocalyxin ELISA Kit (США). Измерения проводили на иммуноферментном анализаторе ELx808 (BioTek, США). Концентрацию подокаликсина выражали в нг/мл.

#### *Определение β2-микроглобулина*

Уровень β2-микроглобулина в моче определяли иммуноферментным методом с помощью коммерческого набора Beta-2-Microglobulin (БиоХимМак, Россия). Измерения проводили на иммуноферментном анализаторе ELx808 (BioTek, США). Концентрацию β2-микроглобулина выражали в нг/мл.

## Статистический анализ

Для анализа полученных данных использовали статистический пакет STATISTICA 10 (StatSoft Inc., США). Проверку нормальности распределения количественных признаков осуществляли с помощью визуально-графического метода и критериев согласия Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро – Уилка. Проверка равенства генеральных дисперсий осуществлялась с помощью критерия Фишера (F-test). Количественное сравнение двух независимых выборок осуществлялось с использованием непараметрического U-критерия Манна – Уитни, для количественного сравнения трёх и более независимых выборок использовался дисперсионный анализ Краскела – Уоллиса.

Для оценки значимости качественных данных использовался анализ таблиц сопряжённости с применением критерия χ-квадрат.

Для исследования взаимосвязи между признаками использовался ранговый корреляционный анализ Спирмена. При положительном значении $r$ связь определялась как положительная, при отрицательном $r$ – как отрицательная. Оценка силы связи: $0{,}01 \leq r \leq 0{,}29$ – слабая связь; $0{,}3 \leq r \leq 0{,}69$ – умеренная связь; $0{,}7 \leq r \leq 1{,}00$ – сильная связь. Диагностическая точность почечных биомаркеров оценивалась с помощью ROC-анализа характеристических кривых. Оценивались классические индексы диагностических целей: площадь под характеристической кривой (AUC, area under curve), чувствительность, специфичность. Оценка качества модели проводилась в соответствии с экспертной шкалой для значений AUC. Оптимальное значение cut-off для каждого почечного биомаркера определялось на основании максимальной оценки чувствительности и специфичности теста, основанного на доле правильно классифицированных пациентов в соответствии с наибольшим значением индекса Юдена. Кроме того, для анализа наиболее значимых биохимических параметров, ассоциированных с ранними проявлениями диабетической нефропатии, был использован многофакторный дискриминантный анализ. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным $p < 0{,}05$.

# ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

## 3.1 Интенсивность окислительного, карбонильного стрессов и уровня компонентов эндогенной интоксикации у мужчин с сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии

С целью анализа интенсивности окислительного и карбонильного стрессов у мужчин с СД 1 типа и разным уровнем альбуминурии (стадии А1 и А2) были определены показатели первичных (ДК), вторичных (КД и СТ) и конечных (ТБК-АП) продуктов ПОЛ, 8OHdG, МГ. Активность системы АОЗ измерялась по уровню общей АОА, α-токоферола, ретинола, активности СОД, параметрам системы глутатиона: ГПО, ГР, Г-S-Т, GSH, GSSG, GSH/GSSG. Для суммарной оценки активности системы ПОЛ–АОЗ был использован интегральный показатель – коэффициент окислительного стресса. Для характеристики процесса эндогенной интоксикации использовались значения среднемолекулярных пептидов (СМП 238, СМП 254, СМП 280).

При оценке уровня продуктов липопероксидации выявлены статистически значимые различия в отношении концентрации ДК, КД и СТ, ТБК-АП в группах А1 и А2 в сравнении с контролем (Таблица 6).

Так, уровень ДК у пациентов с СД 1 типа групп А1 ($p = 0{,}003$) и А2 ($p < 0{,}0001$) был выше показателя контрольной группы. Значения вторичных продуктов ПОЛ – КД и СТ – также были более высокими в группах А1 ($p = 0{,}019$) и А2 ($p < 0{,}0001$) относительно контроля. В отношении конечных ТБК-АП регистрировалась иная тенденция в сравнении с контролем в виде более низких значений в группах А1 ($p = 0{,}023$) и А2 ($p = 0{,}023$).

Таблица 6 – Уровень продуктов липопероксидации у мужчин с СД 1 типа (M ± σ; Me, квартили (25 %–75 %))

| Показатели | Контрольная группа ($n$ = 28) | Пациенты с СД | |
|---|---|---|---|
| | | группа А1 ($n$ = 35) | группа А2 ($n$ = 34) |
| ДК, мкмоль/л | 1,19 ± 0,49<br>1,1 (0,87–1,54) | 1,85 ± 1,02*<br>1,68 (1,02–2,26) | 2,45 ± 0,89*; **<br>2,28 (1,86–3,05) |
| КД и СТ, усл. ед. | 0,32 ± 0,26<br>0,29 (0,17–0,38) | 0,56 ± 0,47*<br>0,44 (0,21–0,82) | 0,71 ± 0,34*<br>0,67 (0,45–0,92) |
| ТБК-АП, мкмоль/л | 1,69 ± 0,54<br>1,69 (1,28–2,02) | 1,24 ± 0,91*<br>0,95 (0,68–1,51) | 1,33 ± 0,67*<br>1,21 (0,93–1,57)* |

Примечание: * – статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$); ** – статистически значимые различия между группами А1 и А2 ($p < 0,05$)

При сравнении вышеприведенных параметров между группами А1 и А2 была выявлена статистически значимая разница только по уровню первичных продуктов ПОЛ. Так, уровень ДК в группе А2 был выше ($p = 0,011$) относительно данных группы А1.

Показатели продуктов липопероксидации обнаруживали однонаправленные изменения в обеих клинических группах. Так, значения продуктов ПОЛ увеличивались почти на всех этапах процесса липопероксидации, за исключением ТБК-АП. Убедительно доказано, что окислительный стресс является объединяющим фактором основных путей, участвующих в развитии и прогрессировании диабетических осложнений [24, 42, 93, 124, 166]. В отношении ДН обоснованными считаются множественные пути, приводящие к производству АФК [97]. Избыточные количества АФК модулируют активность протеинкиназы С, митоген-активируемых протеинкиназ, различных цитокинов и факторов транскрипции, которые в конечном итоге вызывают повышенную экспрессию генов внеклеточного матрикса с прогрессированием заболевания вплоть до фиброза и терминальной стадии почечной недостаточности [163]. Активация ренин-ангиотензиновой системы при диабетической нефропатии способствует ещё большему повреждению почечной ткани, вызванному АФК. АФК, обладая высокой реактогенной способностью, зачастую вступают в реакции с полиненасыщенными жирными кислотами, основными компонентами мембранных фосфолипидов, в результате чего возникают новые цепи окисления, а

в зонах наибольшей активности липопероксидации возникают каналы пассивной проницаемости для различных ионов и воды [212].

В избыточном количестве большинство из продуктов ПОЛ являются высокотоксичными и оказывают повреждающее действие на структурные компоненты клетки: липопротеиды, белки, ферменты и нуклеиновые кислоты [194]. Так, гидроперекиси липидов способны ингибировать синтез ДНК, индуцировать апоптотические процессы, подавлять пролиферацию, созревание и рост клеток, вызывать мутационные изменения [98]. Дальнейшими продуктами процесса ПОЛ являются альдегиды и кетоны, важная роль которых заключается в синтезе простагландинов и ряда стероидов. В результате взаимодействия диальдегидов со свободными группами мембранных соединений образуются конечные продукты ПОЛ (шиффовы основания), накопление которых дестабилизирует мембраны и способствует деструкции клеток [194]. Возрастание уровня токсичных продуктов ПОЛ, как правило, свидетельствует о быстром вовлечении процессов ПОЛ в патогенетические механизмы развивающихся структурно-функциональных нарушений в клетках органов и тканей. Полученные нами данные согласуются с ранее проведёнными исследованиями, свидетельствующими о росте значений продуктов ПОЛ с увеличением интенсивности экскреции альбумина с мочой [167, 189].

8-OH-2-деоксигуанозин считается преобладающей формой свободнорадикального повреждения ДНК. При сравнении значений 8-OH-2-деоксигуанозина в группах больных СД 1 типа были выявлены статистически более высокие значения данного показателя в группе А2 в сравнении с контролем ($p = 0{,}010$) (Таблица 7).

Концентрация МГ как в группе А1 ($p < 0{,}001$), так и в группе А2 ($p < 0{,}001$) была статистически значимо более высокой, чем в контроле. Сравнение результатов между группами А1 и А2 показало повышенные значения 8-OHdG ($p = 0{,}010$) у пациентов группы А2 (Таблица 7).

Таблица 7 – Показатели 8-ОН-2-деоксигуанозина и метилглиоксаля у мужчин с СД 1 типа (M ± σ; Me, квартили (25 %–75 %))

| Показатели | Контрольная группа ($n$ = 28) | Пациенты с СД | |
|---|---|---|---|
| | | группа А1 ($n$ = 35) | группа А2 ($n$ = 34) |
| 8-OHdG, нг/мл | 13,87 ± 5,9<br>14,89 (9,24–18,04) | 14,46 ± 5,06<br>14,23 (10,97–16,39) | 18,51 ± 7,46*; **<br>19,44 (10,32–25,07) |
| МГ, нг/мл | 2,29 ± 1,6<br>2,14 (1,02–3,67) | 3,36 ± 0,69*<br>3,38 (2,92–3,89) | 3,52 ± 0,68*<br>3,52 (3,00–3,96) |

Примечание: * – статистически значимые различия с контрольной группой ($p$ < 0,05); ** – статистически значимые различия между группами А1 и А2 ($p$ < 0,05)

В настоящее время известно, что окисление ДНК связано с широким спектром повреждений, включая клеточное старение и апоптоз [175]. 8-OHdG является модифицированным нуклеозидным основанием, побочным продуктом повреждения ДНК. Установлена тесная взаимосвязь между концентрацией 8-OHdG и хроническими заболеваниями почек или терминальной почечной недостаточностью по сравнению со здоровыми людьми в общей популяции [167]. В отношении больных с СД 1 типа получены данные, свидетельствующие о сильных и независимых ассоциациях высоких концентраций 8-OHdG в плазме с уровнем альбуминурии и СКФ на исходном уровне, а также о риске развития терминальной почечной недостаточности в двух проспективных когортах участников с СД 1 типа, наблюдавшихся в течение 6 лет [175]. Эти данные указывают на возможность потенциального использования определения 8-OHdG в плазме в качестве биомаркера прогрессирования заболевания почек у лиц с СД 1 типа. Данные экспериментальных исследований также подтвердили, что повышенная продукция митохондриальной ДНК в эндотелиальных клетках клубочков и повышенная секреция с мочой 8-OHdG ответственны за ранние повреждения эндотелия [126, 167]. Проведение биопсии почек у больных СД и прогрессирующим заболеванием почек показало сходные результаты [189]. Таким образом, рост уровня 8-OHdG в крови пациентов группы А2 может служить отражением потенциальной роли окислительных повреждений ДНК в развитии ДН.

В отношении показателя карбонильного стресса – МГ – у мужчин с СД 1 типа отмечались повышенные значения как в группе А1, так и в группе А2. МГ относится к карбонильным соединениям, предшественникам гликотоксинов, формирующимся в результате неферментативной реакции Майяра, имеющей место между углеводами и аминогруппами белков, липидов, нуклеиновых кислот [32, 52, 158]. Так, в условиях хронической гипергликемии отмечается значительный рост содержания внутриклеточной глюкозы, активируются патологические пути её метаболических превращений наряду с недостаточной утилизацией [126]. Данные процессы совместно с реакциями ОС приводят к образованию стабильных продуктов Амадори из обратимых нестабильных оснований Шиффа [52]. Продукты Амадори в ходе реакций превращаются во флуоресцентные протеины, гликотоксины, так называемые конечные продукты гликирования. Выяснено, что последние накапливаются, медленно разлагаются и сохраняются в течение длительного времени в сосудистом русле, даже при условии дальнейшей стабилизации уровня глюкозы – механизм «метаболической памяти» [3, 52]. КПГ участвуют в сшивке длительно живущих белков, что способствует жёсткости сосудистой стенки [180]. Показана их роль в модификации митохондриальных белков и, соответственно, нарушении функции митохондрий, гиперпродукции свободных радикалов [52].

В связи с этим МГ рассматривают в качестве важного биомаркера диабетических осложнений из-за его близкой связи с процессами гликирования, дисфункцией β-клеток, инсулинорезистентностью [158]. Установлено, что количество КПГ прямо пропорционально связано с уровнем глюкозы в крови, и даже умеренное её повышение приводит к росту КПГ. Также данное соединение считается наиболее реактивным среди КПГ вследствие его прямого участия в нарушении секреции и функции инсулина, а также в процессах передачи сигналов. Имеются данные о том, что собственный рецептор КПГ – RAGE, имеющийся на поверхности клеток, – может служить важной мишенью терапевтического воздействия при наличии хронической болезни почек у больных СД, и его блокада приводила к замедлению прогрессирования

сосудистых осложнений [212]. Так, у мышей с нокаутом рецепторов к КПГ отмечалось меньше функциональных повреждений почечных структур [180]. Также было выяснено, что увеличение уровня КПГ тесно связано с различными структурно-функциональными изменениями, характерными для диабетической нефропатии, в частности с таким показателем, как скорость клубочковой фильтрации и т. д. [32, 52]. Дальнейшее развитие событий может заключаться в увеличении сосудистой проницаемости, неоваскуляризации, нарушении целостности гистогематического барьера нефронов и т. д. [21, 129]. Считают также, что формирование митохондриальных КПГ является необратимым феноменом, лежащим в основе механизма «метаболической памяти» через образование АФК, что в свою очередь может способствовать развитию повреждающих эффектов на ДНК митохондрий и подавлению функционирования дыхательной цепи [132].

Далее у пациентов с СД 1 типа и разным уровнем альбуминурии был проведён анализ активности показателей системы АОЗ (Таблица 8).

Таблица 8 – Параметры системы АОЗ у мужчин с СД 1 типа
(M ± σ; Me, квартили (25 %–75 %))

| Показатели | Контрольная группа ($n$ = 28) | Пациенты с СД | |
|---|---|---|---|
| | | группа А1 ($n$ = 35) | группа А2 ($n$ = 34) |
| Общая АОА, усл. ед. | 1,25 ± 0,17<br>1,23 (1,15–1,33) | 1,11 ± 0,26*<br>1,14 (1,01–1,26)<br>$p$ = 0,017 | 1,19 ± 0,20<br>1,17 (1,03–1,31) |
| Активность СОД, усл. ед. | 203,46 ± 8,31<br>203,85 (199,56–210,37) | 203,71 ± 5,94<br>204,82<br>(202,97–205,30) | 203,59 ± 8,93<br>205,12<br>(203,59–205,36) |
| α-токоферол, мкмоль/л | 14,62 ± 4,48<br>13,84 (11,16–17,94) | 11,45 ± 4,71*<br>12,17 (7,81–14,09) | 11,96 ± 5,02*<br>12,65 (9,18–14,75) |
| Ретинол, мкмоль/л | 0,43 ± 0,1<br>0,41 (0,36–0,45) | 1,53 ± 1,47*<br>1,35 (0,76–1,92)<br>$p$ < 0,001 | 1,56 ± 2,02*<br>0,81 (0,56–1,72)<br>$p$ < 0,001 |

Примечание: * – статистически значимые различия с контрольной группой ($p$ < 0,05)

При оценке уровня общей АОА было зафиксировано снижение её значений в группе А1 ($p = 0{,}011$) относительно контроля. Концентрация α-токоферола отмечала более низкие значения как в группе А1 ($p = 0{,}009$), так и у пациентов группы А2 ($p = 0{,}033$). Однако уровень ретинола в группах А1 ($p < 0{,}001$) и А2 ($p = 0{,}005$) возрастал в сравнении с контрольными показателями (Таблица 8).

Отмеченные выше изменения в виде более высоких значений показателей окислительного и карбонильного стрессов, как правило, возникают тогда, когда система АОЗ не способна нейтрализовать токсическое действие АФК. Нами было отмечено снижение значений общей АОА, а также α-токоферола в исследуемых группах. Витамин Е (α-токоферол) является соединением фенольного типа. Существует восемь разновидностей токоферола, но наиболее активен α-токоферол Противоокислительная роль α-токоферола проявляется на всех уровнях – от субклеточного до организменного [43, 70]. На сегодняшний момент показано, что механизм действия α-токоферола включает в себя передачу атома водорода с молекулы токоферола на пероксильный радикал с образованием гидроперекиси [28, 70]. Одновременно данный жирорастворимый антиоксидант реагирует с перекисными радикалами основных жирных кислот биомембран, синглетным кислородом, ингибирует радикалы аминокислот, защищает клетки и ткани от повреждений, вызванных NO-радикалами, предупреждает атерогенные изменения ЛПНП [63, 70]. При выполнении антиоксидантной функции α-токоферол окисляется, и восстановление токоферильного радикала происходит за счёт ретинола и аскорбата [28, 70]. Увеличение мощности антиоксидантной системы создаёт определённую гарантию против чрезмерной активации ПОЛ.

Показатели системы глутатиона в группе А1 обнаруживали статистически значимо более низкую активность ГПО ($p = 0{,}0003$) относительно контроля (Таблица 9). В группе А2 в отличие от контрольной группы были получены более высокие значения показателей ГР ($p < 0{,}001$), GSH ($p = 0{,}010$) и GSSG ($p < 0{,}0001$).

Таблица 9 – Показатели системы глутатиона у мужчин с СД 1 типа

(M ± σ; Me, квартили (25 %–75 %))

| Показатели | Контрольная группа ($n$ = 28) | Пациенты с СД | |
|---|---|---|---|
| | | группа А1 ($n$ = 35) | группа А2 ($n$ = 34) |
| Активность ГПО, усл. ед. | 2229 ± 349,02<br>2224,5 (1944,5–2492) | 1513,31 ± 922,92*<br>1099 (829,9–2239) | 1838,06 ± 1029,74<br>1029,74 (948–2879) |
| Активность ГР, усл. ед. | 224,24 ± 70,62<br>197,9<br>(167,750–268,800) | 338,76 ± 411,82<br>264,1<br>(167,400–399,200) | 301,46 ± 98,61*<br>292,75<br>(225,9–373,4) |
| Г-S-Т, нг/мл | 3,79 ± 2,59<br>3,34 (2,19–4,28) | 3,92 ± 1,8<br>3,68 (3,08–4,52) | 4,1 ± 1,27<br>4,29 (3,4–4,9) |
| GSH, ммоль/л | 2,27 ± 0,51<br>2,47 (1,72–2,66) | 2,36 ± 0,76<br>2,3 (1,82–2,68) | 2,89 ± 1,14*; **<br>2,54 (2,25–3,37) |
| GSSG, ммоль/л | 1,79 ± 0,48<br>1,77 (1,47–1,83) | 1,96 ± 0,54<br>1,97 (1,54–2,15) | 2,34 ± 0,47*; **<br>2,31 (1,94–2,63) |
| GSH/GSSG | 1,33 ± 0,37<br>1,35 (0,97–1,65) | 1,37 ± 0,25<br>1,37 (1,31–1,38) | 1,4 ± 0,43<br>1,4 (1,19–1,4) |

Примечание: * – статистически значимые различия с контрольной группой ($p$ < 0,05); ** – статистически значимые различия между группами А1 и А2 ($p$ < 0,05)

При сравнении данных параметров между группами А1 и А2 выявлена статистически значимая разница по уровням GSH и GSSG. В группе А2 уровень как GSH ($p$ = 0,027), так и GSSG ($p$ = 0,003) оказался выше, чем в группе А1 (Таблица 9).

ГПО обнаруживается в цитозоле и митохондриях, осуществляет разложение гидроперекисей, а также утилизирует большую часть перекисей фосфолипидов и жирных кислот посредством окисления глутатиона [71]. GSH является ключевым внутриклеточным антиоксидантом, участвует в биохимических превращениях витаминов и других соединений, регуляции тиол-дисульфидного равновесия и синтеза нуклеиновых кислот, обмене эйкозаноидов и др. Одной из важнейших его функций считается способность к перестройке дикарбонильных соединений в гидрокислоты, в частности, метилглиоксаля в лактат, то есть детоксицирующая функция [158, 180]. По всей видимости, повышенная активность системы глутатиона у больных с СД 1 типа группы А2 может объясняться участием

компонентов системы глутатиона в механизмах детоксификации метилглиоксаля посредством глиоксилазной системы. Ферменты указанной системы снижаются при СД, а GSH действует как катализатор, который связывается с метилглиоксалем с образованием гемитиоацеталя в реакции с глиоксилазой 1 [71, 180]. Однако несмотря на повышенную активность компонентов системы глутатиона у больных группы А2, нормализации компонентов окислительного повреждения не происходит, вследствие чего можно говорить о недостаточной активности указанных параметров в данном случае. В целом в литературе отмечаются противоречивые данные об активности антиоксидантных ферментов у пациентов с СД 1 типа, активность которых зависела от уровня гликемического контроля, продолжительности заболевания, сопутствующих осложнений и т. д. [71]. Есть указания даже на отсутствие различий в активности ферментов глутатионового обмена по отношению к контролю.

Интегральный коэффициент окислительного стресса рекомендуется в качестве суммарного показателя, характеризующего уровень продуктов липопероксидации и факторов антиоксидантной защиты в конкретной группе [26, 50]. КОС отражает стадию формирования патологического процесса в организме, в том числе при наличии заболеваний хронического характера [31]. Согласно полученным данным, показатель КОС в обеих группах не отличался от контрольных значений ($p > 0,05$). Межгрупповых различий также выявлено не было ($p > 0,05$), хотя тенденция к нарастанию данного параметра имелась в группе А2 (Таблица 10).

Таблица 10 – Уровень КОС в исследуемых группах мужчин с СД 1 типа (M ± σ; Me, квартили (25 %–75 %))

| Показатель | Контрольная группа ($n$ = 28) | Пациенты с СД | |
|---|---|---|---|
| | | группа А1 ($n$ = 35) | группа А2 ($n$ = 34) |
| КОС | 1,49 ± 1,45<br>0,69 (0,36–1,61) | 1,43 ± 1,33<br>0,53 (0,2–2,12) | 2,55 ± 2,19<br>0,77 (0,15–1,59) |

Вероятно, сохранение относительного баланса показателей в группе А1 обеспечивается менее интенсивным ростом продуктов липопероксидации

и компенсаторной активностью факторов АОЗ, по сравнению с группой А2 (Таблица 10). Повышенные значения КОС в группе А2 характеризуют более выраженные изменения в системе липопероксидации, что подтверждалось нами ранее при сравнении средних значений.

Также нами был проведён анализ показателей эндогенной интоксикации – СМП (Таблица 11). Были зарегистрированы повышенные значения СМП 238 ($p < 0,0001$), СМП 254 ($p = 0,020$) и сниженные – СМП 280 ($p < 0,0001$) в группе А1 относительно контроля. В группе А2 были зафиксированы повышенные значения СМП 238 ($p = 0,003$) и сниженные – СМП 280 ($p < 0,0001$) относительно контроля.

Таблица 11 – Уровень молекул средней массы у мужчин с СД 1 типа (M ± σ; Me, квартили (25 %–75 %))

| Показатели | Контрольная группа ($n = 28$) | Пациенты с СД | |
|---|---|---|---|
| | | группа А1 ($n = 35$) | группа А2 ($n = 34$) |
| СМП 238, усл. ед. | 0,17 ± 0,09<br>0,17 (0,1–0,2) | 0,64 ± 0,55*<br>0,35 (0,26–1,08) | 0,39 ± 0,36*<br>0,31 (0,24–0,39) |
| СМП 254, усл. ед. | 0,27 ± 0,04<br>0,26 (0,23–0,29) | 0,46 ± 0,44*<br>0,28 (0,19–0,66) | 0,24 ± 0,21<br>0,21 (0,16–0,24) |
| СМП 280, усл. ед. | 0,52 ± 0,08<br>0,53 (0,47–0,59) | 0,14 ± 0,13*<br>0,06 (0,03–0,25) | 0,17 ± 0,11*<br>0,17 (0,05–0,28) |

Примечание: * – статистически значимые различия с контрольной группой ($p < 0,05$)

Уровень среднемолекулярных пептидов служит универсальным биомаркером эндогенной интоксикации. Согласно полученным данным, у пациентов группы А1 отмечались высокие значения СМП 238 и СМП 254, у пациентов группы А2 – только СМП 238. СМП относятся к продуктам клеточной дезорганизации, неполного распада и неферментного превращения белков – т. н. фрагменты эндогенных белков. В состав СМП входят различные сочетания регуляторных пептидов, в т. ч. пептидные гормоны и их фрагменты, нерегуляторные олигопептиды и др. [9, 60]. Значимость определения в биологических жидкостях уровня СМП с молекулярной массой 300–5000 Д

при различных заболеваниях общепризнана. Как правило, они характеризуют тяжесть интоксикации [27]. Главным источником образования СМП служит неферментивный протеолиз, в т. ч. белков крови (фибриногена, альбумина, тромбина), в результате которого и образуются продукты высокой функциональной активности [60]. Определяют несколько фракций СМП в зависимости от длины волны. В нашем исследовании наиболее показательной оказалась фракция с интенсивностью ультрафиолетового поглощения при 238 нм, которая определяется главным образом наличием веществ катаболического происхождения, ксенобиотиков, продуктов распада клеток тканей, микробной природы и т. д. Поэтому появление высоких значений экстинций при длине волны 238 нм всегда свидетельствует о патологических процессах в организме [27]. Увеличение высоты параболы при длине волны 258 нм свидетельствует о возрастании количества метаболитов, сорбированных на гликокаликсе и/или находящихся внутри эритроцитов. Наиболее вероятным объяснением накопления СМП 280 может быть потеря белками ароматических аминокислот в результате окислительной модификации и фрагментации молекул. Увеличение значений данного показателя, как правило, может свидетельствовать об усилении катаболических процессов, стимуляции процессов ПОЛ и иммуногенеза [9, 60]. Имеются данные, согласно которым высокие значения СМП могут свидетельствовать о степени деструкции молекул белковой природы, а также отражают активность воспалительной реакции в почечной паренхиме [66]. Вследствие прямого воздействия СМП на липиды биомембран можно ожидать развития патологических явлений разобщающего характера: нарушения микроциркуляции, разобщения процессов окислительного фосфорилирования, угнетения ферментов углеводного и энергетического метаболизма и т. д. [65]. Существует тесная взаимосвязь накопления СМП и процессов ПОЛ, что приводит к избыточному образованию продуктов ПОЛ и белков [46].

Таким образом, было выявлено, что у пациентов с СД 1 типа вне зависимости от стадии альбуминурии (стадии А1, А2) регистрируются окислительные повреждения основных структурных компонентов клеток, интенсификация

процессов эндогенной интоксикации и разнонаправленные изменения в системе АОЗ, свидетельствующие о различной реактивности звеньев антиоксидантной защиты в условиях манифестации диабетической нефропатии. Особого внимания при этом заслуживает группа А1, демонстрирующая многообразие метаболических реакций.

## 3.2 Оценка параметров почечного повреждения у мужчин с сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии

Согласно данным литературы, выделены основные группы ранних потенциальных почечных маркеров: тубулярные маркеры, маркеры повреждения подоцитов, факторы роста, иммуновоспалительные факторы, продукты обмена внеклеточного матрикса, позволяющие прогнозировать развитие ДН с высокой специфичностью и чувствительностью [7]. В нашем исследовании использованы два типа почечных маркеров – подокаликсин и β2-микроглобулин, характеризующие, соответственно, гломерулярные и тубулоинтерстициальные изменения почечных структур. Были установлены более высокие значения подокаликсина в группах А1 ($p = 0{,}003$) и А2 ($p = 0{,}004$) относительно контрольных значений. Статистически значимых различий в отношении β2-микроглобулина выявлено не было ($p > 0{,}05$) (Таблица 12).

Анализ уровня экскреции с мочой подокаликсина и β-микроглобулина в исследуемых группах показал наличие статистически значимых изменений только в отношении подокаликсина. Нами отмечено, что экскреция его с мочой была повышена в обеих группах относительно контроля, при этом в группе А2 – более интенсивно. Подокаликсин представляет собой специфический белок, экспрессирующийся на поверхности подоцитов [69, 222]. Экспериментальные исследования на моделях формирования ДН показали, что повреждение подоцитов играет ведущую роль в нарушениях проницаемости фильтрационного барьера и развитии гломерулосклероза, при этом происходит значительное слущивание подоцитов в мочевое пространство [222]. В настоящее время убедительно доказана

связь между количеством подоцитов в моче и почечными заболеваниями – нефропатией, системным нефритом, фокальным сегментарным гломерулосклерозом и др. [8, 176]. Данный показатель отражает повреждения клубочкового аппарата почек, при этом происходит усиленное выделение подоцитов с мочой [201]. Исследования ряда авторов показали, что подоцитурия развивается у 74 % больных с нормоальбуминурией и у 54 % с микроальбуминурией, с одинаковой частотой при 1-м и 2-м типах СД [115, 222]. Указанные данные свидетельствуют в пользу того, что подоциты при СД повреждаются гораздо раньше нарушений проницаемости почечного фильтра, то есть 2-й стадии альбуминурии. Таким образом, наши данные подтверждают ранее проведённые исследования о росте данного показателя у больных с ДН [201, 222].

Таблица 12 – Уровень подокаликсина и β2-микроглобулина у мужчин с СД 1 типа (M ± σ; Me, квартили (25 %–75 %))

| Показатели | Контрольная группа ($n$ = 28) | Пациенты с СД | |
|---|---|---|---|
| | | группа А1 ($n$ = 35) | группа А2 ($n$ = 34) |
| Подокаликсин, нг/мл | 1,19 ± 0,42<br>1,16 (0,9–1,52) | 1,87 ± 0,68*<br>1,97 (1,36–2,42)<br>$p$ < 0,001 | 1,75 ± 0,57*<br>1,72 (1,2–2,09)<br>$p$ < 0,001 |
| β2-микроглобулин, мг/л | 0,08 ± 0,05<br>0,07 (0,05–0,1) | 0,07 ± 0,06<br>0,05 (0,01–0,08) | 0,02 ± 0,18<br>0,05 (0,01–0,24) |

Примечание: * – статистически значимые различия с контрольной группой ($p$ < 0,05)

В отношении другого показателя – β2-микроглобулина – в обеих группах статистически значимых изменений выявлено не было. Данный параметр характеризует повреждения почечных канальцев, и, таким образом, можно констатировать, что ярко выраженных изменений подобного рода у больных не наблюдалось.

Далее нами была произведена оценка относительного количества пациентов с СД 1 типа с повышенными значениями подокаликсина относительно контрольных значений (Таблица 13). Границы нормы показателя для контрольной группы рассчитывались с учётом коэффициента Йейтса ($M \pm t \times m$). Частота встречаемости пациентов с повышенным подокаликсином в группе А1 составила 91,4 %, в группе А2 – 74 % (Таблица 13).

Таблица 13 – Относительное количество пациентов с СД 1 типа с повышенным уровнем подокаликсина в моче, *n* (%)

| Почечный маркер | Группа А1 (*n* = 35) | Группа А2 (*n* = 34) |
|---|---|---|
| Подокаликсин | 30 (91,4 %) | 26 (74 %) |

При этом статистически значимых различий по частоте встречаемости пациентов с СД 1 типа и высоким уровнем подокаликсина в разных группах выявлено не было ($p > 0,05$). Однако наблюдалась тенденция к росту значений в группе А1, что указывает на однонаправленность изменений у большинства пациентов данной группы.

Вследствие доминирования исследуемого параметра представлялась интересной оценка его диагностической значимости на основании сопоставления чувствительности и специфичности в сравнении с оценкой классических маркеров поражения почек [33, 56].

Для этого был выполнен сравнительный анализ площадей под характеристическими кривыми ранних почечных маркеров (подокаликсина и β2-микроглобулина) и классических параметров (альбумина мочи и соотношения альбумин/креатинин в моче), показавший наилучшие значения чувствительности (60,0) и специфичности (92,9) для подокаликсина (Рисунок 2).

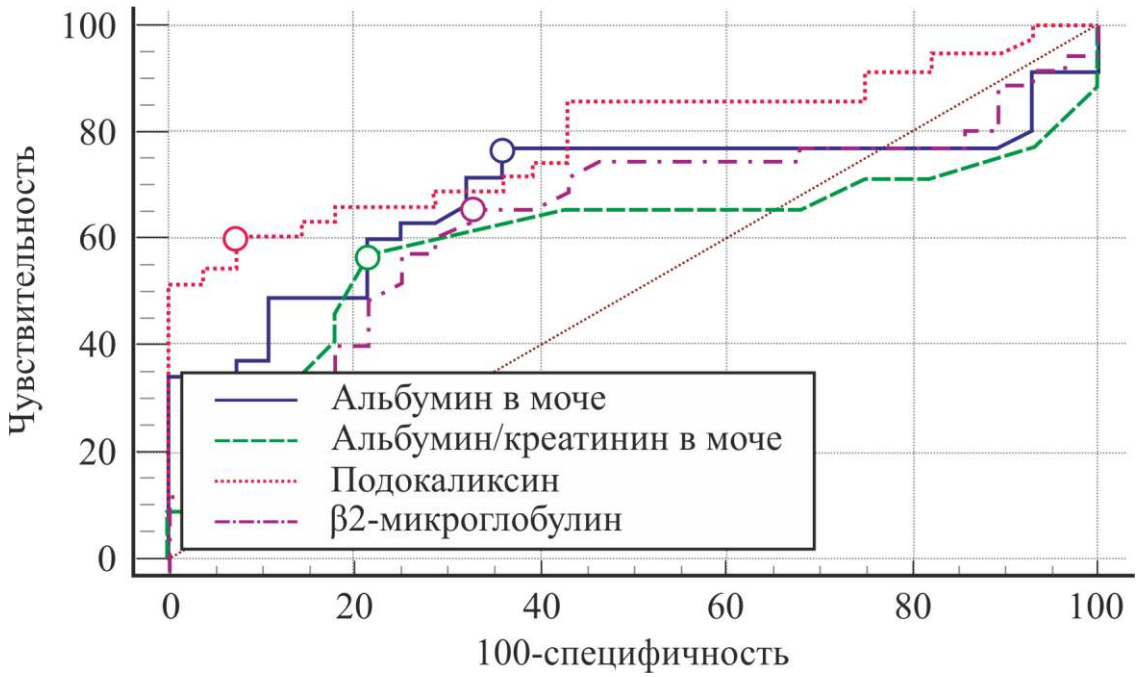


Рисунок 2 – ROC-анализ ранних (Подокаликсин, β-2 – микроглобулин) и традиционных (Альбумин мочи, альбумин/креатининовое соотношение) почечных маркеров.

При анализе ROC-кривых принято придерживаться определённого принципа: чем ближе к левому верхнему углу сетки координат расположена кривая, тем выше информативность исследуемого метода диагностики или лучше качество системы отображения данных [36]. В ином случае (когда кривая находится близко к диагонали), информативность минимальна. Однако визуальное сравнение кривых ROC-анализа не всегда позволяет выявить наиболее эффективную модель. Качественным методом сравнения ROC-кривых является оценка площади под кривыми. Более демонстративным является изображение количественных значений площадей AUC в табличном варианте (Таблица 14).

Нами было получено, что значения площади под кривой и показатель специфичности для подокаликсина были статистически значимо выше при сравнении с классическими почечными маркерами и β2-микроглобулином (Таблица 14). Для данного параметра “cut-off” (связанный критерий, точка разделения) составил 1,76, что может свидетельствовать о вероятности наличия диабетической нефропатии в начальной стадии.

Таблица 14 – Оптимальные значения почечных биомаркеров в моче

| Биомаркеры | AUC | Чувстви-тельность | Cut-off | Специ-фичность | Индекс Юдена |
|---|---|---|---|---|---|
| Альбумин (моча) | **0,689 (*p* = 0,007)** | 77,14 | < 11 | 64,29 | 0,414 |
| Альбумин/креатинин (моча) | 0,587 (*p* = 0,249) | 57,14 | > 1,1 | 78,57 | 0,357 |
| Подокаликсин (моча) | **0,788 (*p* < 0,0001)** | 60 | > 1,76 | 92,86 | 0,529 |
| β2-микроглобулин | 0,636 (*p* = 0,059) | 65,71 | < 0,064 | 67,86 | 0,336 |

Примечание: полужирным выделены статистически значимые биомаркеры ($p < 0,05$)

Можно заключить, что подокаликсин может рекомендоваться для дифференцированного подхода к верификации группы по развитию гломерулярных нарушений почек у мужчин, больных СД 1 типа.

### 3.3 Сравнительный анализ изменений функциональных связей показателей окислительного, карбонильного стрессов и маркеров почечного повреждения у мужчин с сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии

С целью анализа внутри- и межсистемных взаимодействий в контрольной группе и группах мужчин с СД 1 типа (стадии А1 и А2) был проведён корреляционный анализ (Рисунки 3, 4, 5, 6).

При исследовании корреляционных зависимостей в контрольной группе установлено 8 положительных и 6 отрицательных связей (Рисунок 3). Среди параметров окислительного стресса выделялись зависимости между КД и СТ и ГР ($r = 0,56$; $p = 0,020$), ТБК-АП и МГ ($r = 0,42$; $p = 0,027$), МГ и GSH ($r = –0,34$; $p = 0,043$), СОД и ГПО ($r = 0,38$; $p = 0,042$), ГР и GSH ($r = –0,62$; $p < 0,0001$), СМП 238 и СМП 254 ($r = 0,58$; $p = 0,001$), СМП 238 и GSSG ($r = –0,41$; $p = 0,03$), СМП 254 и СМП 280 ($r = 0,56$; $p = 0,002$) (Рисунок 3). Большинство связей в группе контроля носили

закономерный и положительный характер. Так, положительные зависимости между продуктами липопероксидации и факторами АОЗ, а также между компонентами системы АОЗ свидетельствовали о согласованности работы данной системы. Показатель карбонильного стресса – МГ – обнаруживал взаимосвязи с конечными продуктами ПОЛ и восстановленной формой глутатиона, что указывало одновременное наличие окислительных повреждений различных биосубстратов при ОС. Установлено также, что накопление реакционно-способных форм карбонильных соединений протекает при непосредственном участии свободных радикалов и тесно связано с образованием продуктов свободнорадикального окисления [45]. Устойчивые зависимости компонентов эндогенной интоксикации – СМП – между различными фракциями и окисленной формой глутатиона также свидетельствовали о наличии закономерных взаимозависимостей в контрольной группе. В контрольной группе имела место логичная связь между альбумином мочи и уровнем альбумин/креатининового соотношения ($r = 0{,}57$; $p = 0{,}002$). При изучении межсистемных зависимостей установлены взаимосвязи альбумина мочи с МГ ($r = 0{,}56$; $p = 0{,}02$), ГР ($r = –0{,}45$; $p = 0{,}015$) и Г-S-Т ($r = 0{,}43$; $p = 0{,}024$), а также альбумин/креатининового соотношения с уровнем GSH ($r = 0{,}45$; $p = 0{,}017$), что может указывать на доминирующую позицию показателя карбонильного стресса и глутатионзависимых ферментов в отношении общепринятых маркеров диабетической нефропатии. При этом показатель липопероксидации – ДК – обнаруживал взаимосвязь с подокаликсином ($r = –0{,}38$; $p = 0{,}043$), почечным маркером последнего поколения.

При проведении корреляционного анализа в группе мужчин с СД 1 типа стадии А1 выявлено большее количество связей: 15 положительных и 8 отрицательных (Рисунок 4). В системе ПОЛ–АОЗ выявлены связи между ДК и КД и СТ ($r = 0{,}43$; $p = 0{,}011$), ДК и СМП 280 ($r = 0{,}43$; $p = 0{,}011$), КД и СТ и СМП 280 ($r = 0{,}39$; $p = 0{,}02$), ТБК-АП и α-токоферолом ($r = –0{,}37$; $p = 0{,}027$), ТБК-АП и ретинолом ($r = 0{,}66$; $p < 0{,}0001$), МГ и α-токоферолом ($r = –0{,}57$; $p < 0{,}0001$), МГ и ретинолом ($r = 0{,}39$; $p = 0{,}017$), МГ и СМП 280 ($r = –0{,}34$; $p = 0{,}044$), 8-OHdG и GSH ($r = 0{,}37$; $p = 0{,}029$) (Рисунок 4).

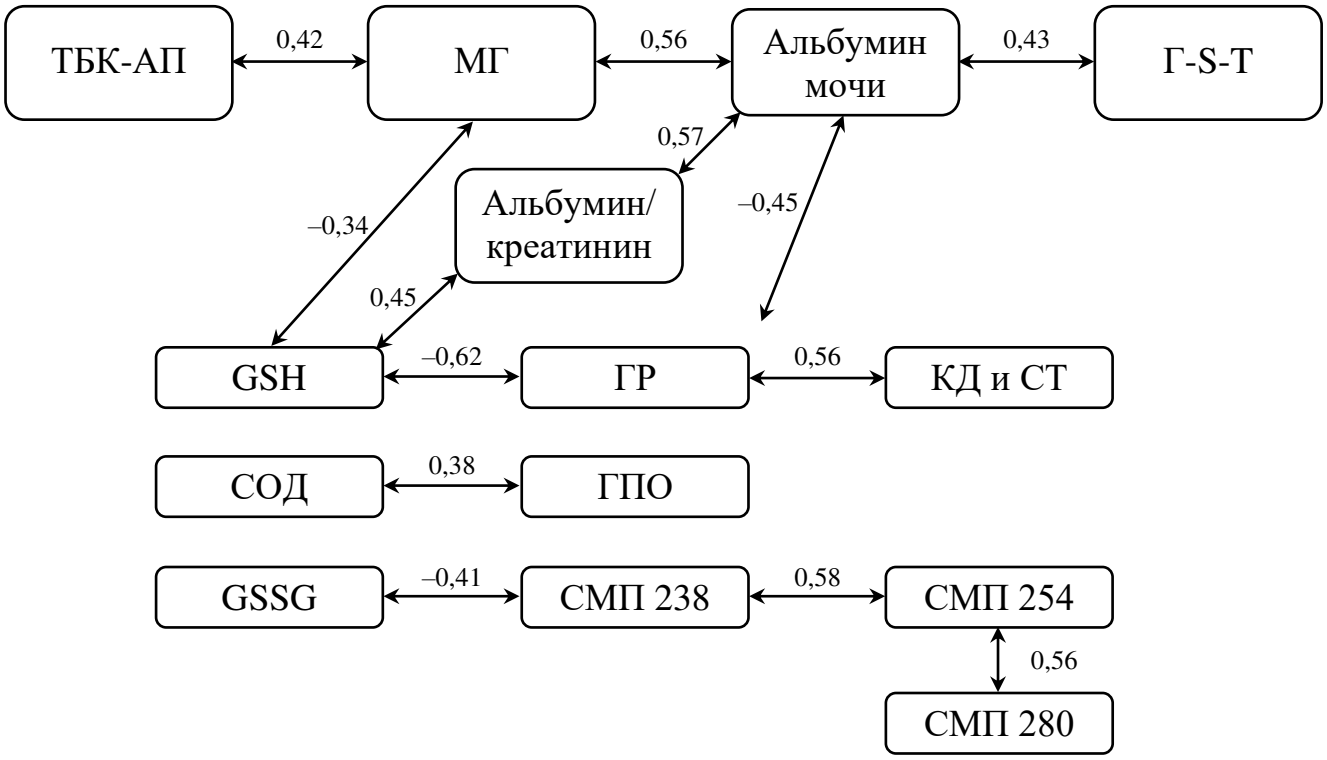


Рисунок 3 – Внутри- и межсистемные взаимосвязи в контрольной группе мужчин

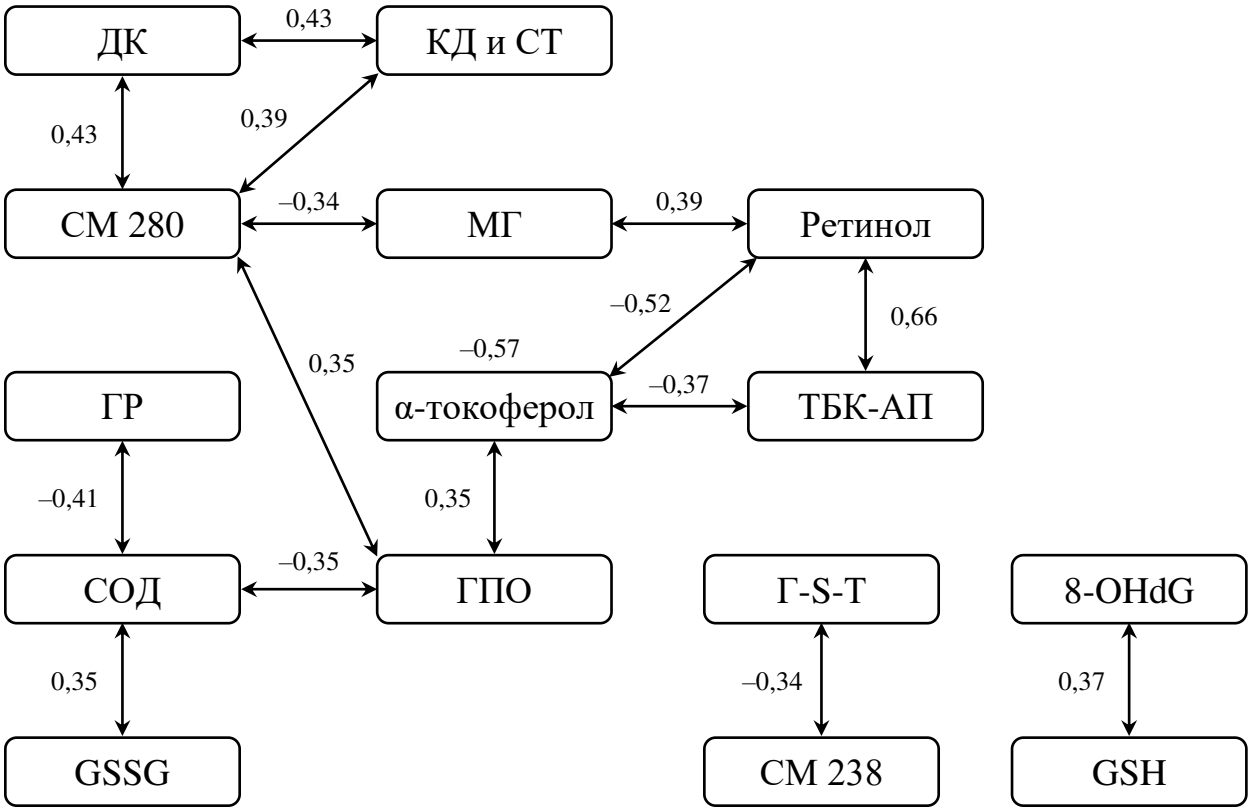


Рисунок 4 – Корреляционные связи между параметрами ПОЛ–АОЗ у мужчин с СД 1 типа стадии А1

Значительное увеличение зависимостей среди параметров окислительного повреждения клеточных биоструктур между собой, причём положительного характера, может указывать на относительную дестабилизацию метаболических взаимоотношений, так как более устойчивыми для патологической системы считаются отрицательные взаимосвязи. Наличие зависимостей факторов АОЗ с конечными продуктами ПОЛ свидетельствует о достаточной их активности в отношении конечных метаболитов, что мы и регистрировали в предыдущей главе. Обращает на себя внимание ряд связей показателей карбонильного стресса и повреждения ДНК с компонентами системы АОЗ, что указывает на включение, хотя и недостаточное, последних в механизмы обезвреживания токсичных продуктов. Параметр СМП 280 имеет многочисленные зависимости с продуктами ПОЛ и МГ. Основным источником накопления молекул данной фракции, как правило, являются реакции окислительной модификации и фрагментации белковых молекул, что закономерно объясняет указанные взаимосвязи. Увеличение значений СМП 280 указывает на усиление катаболических явлений, стимуляцию процессов ПОЛ и иммуногенеза [9]. Также в данной группе пациентов были выявлены тесные связи между компонентами системы АОЗ: СОД и ГР ($r = 0{,}41$; $p = 0{,}014$), СОД и ГПО ($r = –0{,}35$; $p = 0{,}038$), СОД и GSSG ($r = 0{,}35$; $p = 0{,}041$), ГПО и α-токоферолом ($r = 0{,}35$; $p = 0{,}036$), ретинолом и α-токоферолом ($r = –0{,}52$; $p = 0{,}002$), свидетельствующие об активации синергетических взаимодействий между антиоксидантами разной направленности действия. Кроме того, в данной группе были имели место связи между ГПО и СМП 280 ($r = 0{,}35$; $p = 0{,}0139$), Г-S-Т и СМП 238 ($r = –0{,}34$; $p = 0{,}048$), указывающие на активную вовлеченность детоксицирующих эффектов системы глутатиона в отношении молекул средней массы. При изучении взаимосвязей между параметрами системы ПОЛ–АОЗ и маркерами почечного повреждения в группе мужчин с СД 1 типа группы А1 установлены следующие закономерности: между альбумином мочи и уровнем 8-OHdG ($r = 0{,}38$; $p = 0{,}023$), уровнем альбумин/креатининового соотношения и 8-OHdG ($r = 0{,}36$; $p = 0{,}03$) (Рисунок 5).

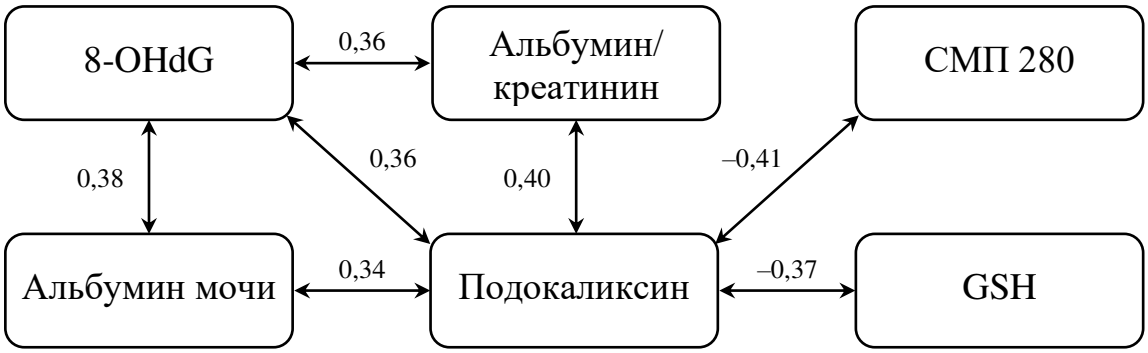


Рисунок 5 – Корреляционные связи между параметрами ПОЛ–АОЗ и маркерами повреждения почек у мужчин с СД 1 типа стадии А1

Указанные зависимости могут характеризовать определённое влияние генотоксических эффектов в отношении начальных проявлений диабетической нефропатии. Заслуживают особого внимания многочисленные закономерные взаимосвязи нового почечного маркера – подокаликсина – с общепринятыми маркерами (альбумин/креатининовым соотношением ($r = 0{,}40$; $p = 0{,}016$) и альбумином мочи ($r = 0{,}34$; $p = 0{,}046$), а также показателем эндогенной интоксикации – СМП 280 ($r = –0{,}41$; $p = 0{,}014$) и GSH ($r = –0{,}37$; $p = 0{,}030$) (Рисунок 5). Наличие данных зависимостей указывает на значимость воздействий исследуемого маркера в отношении разного рода метаболических показателей. Отмечается логичная связь между альбумином мочи и уровнем альбумин/креатининового соотношения ($r = 0{,}92$; $p = 0{,}034$).

При анализе взаимосвязей в группе мужчин с СД 1 типа стадии А2 выявлены 21 положительная и 6 отрицательных связей (Рисунок 6).

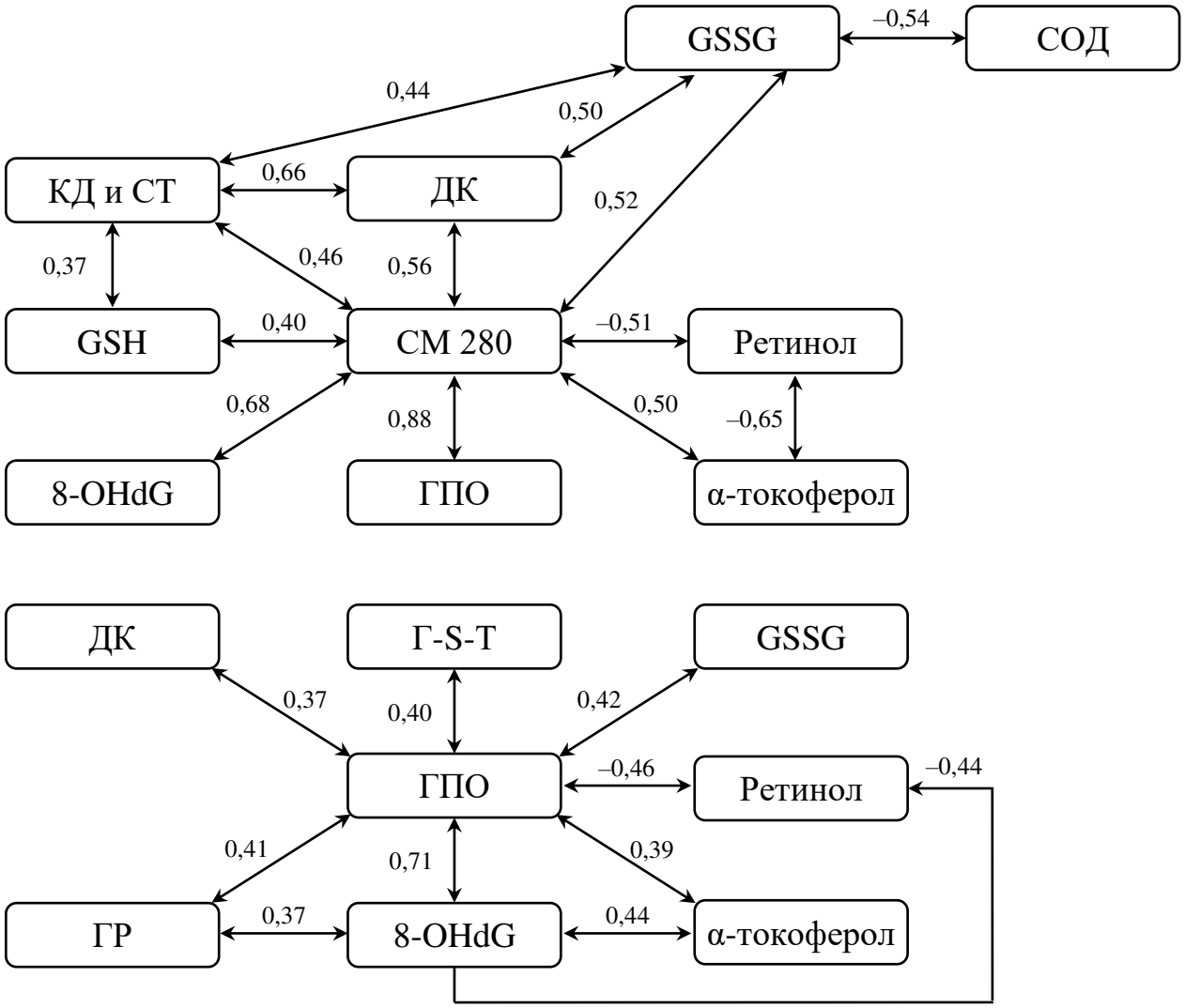


Рисунок 6 – Корреляционные связи между параметрами ПОЛ–АОЗ и маркерами повреждения почек у мужчин с СД 1 типа стадии А2

В системе ПОЛ–АОЗ выявлены многочисленные внутрисистемные зависимости между: ДК и КД и СТ ($r = 0{,}66$; $p < 0{,}0001$), ДК и ГПО ($r = 0{,}37$; $p = 0{,}029$), ДК и GSSG ($r = 0{,}50$; $p = 0{,}02$), КД и СТ и GSH ($r = 0{,}37$; $p = 0{,}032$), КД и СТ и GSSG ($r = 0{,}44$; $p = 0{,}01$). СОД и GSSG ($r = –0{,}54$; $p = 0{,}001$), ГПО и α-токоферолом ($r = 0{,}39$; $p = 0{,}022$), ГПО и ретинолом ($r = –0{,}46$; $p = 0{,}006$), ГПО и Г-S-Т ($r = 0{,}40$; $p = 0{,}061$), ГПО и ГР ($r = 0{,}41$; $p = 0{,}012$), ГПО и GSSG ($r = 0{,}42$; $p = 0{,}014$), α-токоферолом и ретинолом ($r = –0{,}65$; $p < 0{,}0001$). Многообразие данных связей может свидетельствовать о повышенной активности факторов системы ПОЛ–АОЗ между собой. При этом для них характерна положительная

направленность, хотя для стабильности системы необходимы связи отрицательной направленности. Также в данной группе выделяются зависимости фермента – ГПО, – который обеспечивает нейтрализацию потенциально опасной формы активных форм кислорода – перекиси водорода. От активности ГПО зависит целостность клеточных и внутриклеточных мембран. Антиоксидантные функции селенсодержащих форм ГПО сильно увеличиваются за счёт наличия селена в составе активного центра [1, 45, 50]. Обращает на себя внимание также наличие большого количества зависимостей СМП 280 с компонентами липопероксидации: ДК и СМП 280 ($r = 0{,}56$; $p = 0{,}01$), КД и СТ и СМП 280 ($r = 0{,}46$; $p = 0{,}006$), ГПО и СМП 280 ($r = 0{,}88$; $p < 0{,}0001$), α-токоферол и СМП 280 ($r = 0{,}50$; $p = 0{,}002$), ретинол и СМП 280 ($r = –0{,}51$; $p = 0{,}002$), GSH и СМП 280 ($r = 0{,}40$; $p = 0{,}018$), GSSG и СМП 280 ($r = 0{,}52$; $p = 0{,}002$), – что указывает на близость их морфофункциональных характеристик. Считается также, что степень выраженности эндотоксемии отражает нарушение равновесия между образованием эндотоксинов в организме и возможностями систем их биологической трансформации и элиминации [9]. Вследствие более низкой концентрации фракции 280 в данной группе пациентов представляются закономерными многочисленные взаимодействия СМП 280 с антиоксидантными факторами. Кроме того, в данной группе пациентов имеют место 6 зависимостей 8-OHdG с исследуемыми показателями: ГР ($r = 0{,}37$; $p = 0{,}033$), ГПО ($r = 0{,}71$; $p < 0{,}0001$), α-токоферолом ($r = 0{,}44$; $p = 0{,}01$), ретинолом ($r = –0{,}44$; $p = 0{,}009$), СМП 280 ($r = 0{,}68$; $p < 0{,}0001$). Можно предположить наличие направленного действия ферментативных и неферментативных факторов системы АОЗ в отношении данного показателя. Однако судя по его повышенным средним значениям в этой группе, их активность является недостаточной и предполагает введение дополнительных средств коррекции. Также в группе пациентов А2 зафиксирована логичная положительная корреляционная связь между уровнем альбумина мочи и альбумин/креатининовым соотношением ($r = 0{,}71$; $p < 0{,}0001$).

Анализ корреляционных взаимоотношений показал увеличение количества неустойчивых взаимосвязей положительного характера в группах пациентов

с СД 1 типа стадий А1 и А2 по сравнению с контрольной группой. Значимость влияний нового почечного маркера – подокаликсина – в группе А1 выражалась наличием его тесных взаимодействий с показателями деструкции ДНК, эндогенной интоксикации и восстановленного глутатиона в группе пациентов А1 и отсутствием данных зависимостей при стадии А2.

### 3.4 Выявление наиболее информативных метаболических показателей у мужчин с сахарным диабетом 1 типа на доклинических стадиях диабетической нефропатии

Далее с целью выявления наиболее информативных параметров нами был использован дискриминантный анализ. Этот вид многомерного статистического анализа позволяет предсказать принадлежность объекта к двум или более независимым группам. В данном случае – соответствие/несоответствие пациента конкретной группе с риском развития сопутствующих осложнений основного патологического процесса (пациента с СД 1 типа к группе риска развития стадии микроальбуминурии).

Использование данной методики анализа данных позволяет оптимальным способом классифицировать все исследуемые параметры, а затем отнести пациента к одной из групп. В ходе выполнения дискриминантного анализа проводили определение информативности показателей, которые были включены в линейные дискриминантные функции (ЛДФ) и расчёт линейных коэффициентов классификационных функций (ЛККФ) (Таблица 15). Затем была построена матрица классификации с оценкой чувствительности групп обучающей информации по ЛККФ и определены коэффициенты канонических ЛДФ и канонические значения по ЛДФ [36].

В группах пациентов с СД 1 типа для чёткого разграничения двух групп из всего ряда параметров были выявлены наиболее информативные, не коррелирующие между собой. К таковым были отнесены GSSG, СМП 254, ДК, 8-OHdG, МГ.

Таблица 15 – Значения коэффициентов линейных классификационных функций в исследуемых группах

| Показатели | Группа А1 | Группа А2 |
|---|---|---|
| GSSG | 6,41 | 7,73 |
| СМП 254 | 0,63 | –1,67 |
| ДК | 2,71 | 3,32 |
| 8-ОН-2дезоксигуанозин | 0,23 | 0,32 |
| МГ | 7,70 | 8,38 |
| *Константа* | *–24,23* | *–31,28* |

Для данных критериев были построены уравнения дискриминантной функции:

$$F_1 = –24{,}23 + 6{,}41 \times \boldsymbol{x_1} + 0{,}63 \times \boldsymbol{x_2} + 2{,}71 \times \boldsymbol{x_3} + 0{,}23 \times \boldsymbol{x_4} + 7{,}7 \times \mathbf{x_5}$$

$$F_2 = –31{,}28 + 7{,}73 \times \boldsymbol{x_1} – 1{,}67 \times \boldsymbol{x_2} + 3{,}32 \times \boldsymbol{x_3} + 0{,}32 \times \boldsymbol{x_4} + 8{,}38 \times \boldsymbol{x_5}$$

где: $F_1$ – линейная классификационная функция для отнесения мужчин с СД 1 типа в группу со стадией нефропатии А1; $F_2$ – линейная классификационная функция для отнесения мужчин с СД 1 типа в группу со стадией нефропатии А2; $x_1$ – GSSG; $x_2$ – СМП 254; $x_3$ – ДК; $x_4$ – 8OHdG; $x_5$ – МГ.

Далее была проведена стандартизация значений по формуле $Z = (X – m) / S$, где $Z$ – стандартизированное значение переменной $X$; $m$ – среднее значение переменной; $S$ – стандартное отклонение.

Данная процедура необходима для соотнесения показателей к единообразию. Относительная величина разницы между стандартными показателями в точности соответствует относительной величине различия первичных показателей.

Для получения назначений по отнесению тестируемого пациента к соответствующей группе (есть риск формирования ДН или нет) значения каждого показателя были внесены в уравнения классификационной функции. Отнесение объекта к определённой группе выполняется по максимальному значению классификационной функции. Если значение в результате тестирования было

положительным ($F_1 < F_2$), и у мужчины с СД 1 типа подтверждалось наличие высокого риска развития ДН, то результат признавался истинно положительным ($a$ = 20 человек), иначе он признавался ложноотрицательным ($c$ = 3 человека). Если значение при тестировании было отрицательным ($F_1 > F_2$), и у мужчины с СД 1 типа не было риска формирования ДН, то полученный результат признавался истинно отрицательным ($b$ = 22 человека), иначе он признавался ложноположительным ($d$ = 5 человек).

Для определения диагностической значимости отобранных показателей и построенных классификационных уравнений в оценке риска возникновения начальных проявлений диабетической нефропатии были определены:

- чувствительность – доля больных с положительным результатом теста среди пациентов с СД 1 типа с подтверждёнными начальными проявлениями нефропатии: $a / (a + c) \times 100\ \% = 86{,}96\ \%$;
- специфичность – доля лиц с отрицательным результатом теста среди пациентов с СД 1 типа с подтверждёнными начальными проявлениями нефропатии: $d / (b + d) \times 100\ \% = 18{,}52\ \%$;
- диагностическая эффективность построенных классификационных уравнений (точность теста) – доля правильных результатов теста в общем количестве полученных результатов: $(a + b) / (a + b + c + d) \times 100\ \% = 84\ \%$;
- прогностическая ценность положительного результата – вероятность начальных проявлений нефропатии при положительном результате теста: $a / (a + b) \times 100\ \% = 47{,}62\ \%$;
- прогностическая ценность отрицательного результата – вероятность того, что при отрицательном результате теста на фоне СД 1 типа не разовьются начальные проявления нефропатии: $d / (c + d) \times 100\ \% = 62{,}5\ \%$.

Таким образом, включение данных показателей в уравнения классификационных функций можно рассматривать как дополнительные диагностические критерии, которые обладают высокой чувствительностью, но низкой специфичностью и позволяют включать мужчин с СД 1 типа в группу риска развития начальных проявлений нефропатии с точностью 84 %.

## Примеры прогнозирования риска развития диабетической нефропатии у мужчин с СД 1 типа

***Клинический пример № 1***

Пациент Ш., возраст – 33 года, поступил в отделение в плановом порядке в связи с недостижением целевых параметров гликемического контроля, предъявлял жалобы на сухость во рту, полиурию, слабость. Длительность СД 1 типа – 3 года. На момент поступления в отделение уровень альбуминурии А2.

Результаты исследования:

GSSG – 2,39 ммоль/л; СМП 254 – 0,21 усл. ед.; ДК – 3,05 мкмоль/л; 8-ОН-2-деоксигуанозин – 19,43 нг/мл; метилглиоксаль – 4,21 нг/мл.

Расчёт прогностических коэффициентов:

$F_1 = -24{,}23 + 6{,}41 \times 2{,}39 + 0{,}63 \times 0{,}21 + 2{,}71 \times 3{,}05 + 0{,}23 \times 19{,}43 + 7{,}7 \times 4{,}21$

$F_2 = -31{,}28 + 7{,}73 \times 2{,}39 - 1{,}67 \times 0{,}21 + 3{,}32 \times 3{,}05 + 0{,}32 \times 19{,}43 + 8{,}38 \times 4{,}21$

Результат:

$F_1 = 36{,}35$

$F_2 = 38{,}45$

Заключение: в результате расчёта $F_1 < F_2$; можно предположить высокий риск возникновения диабетической нефропатии у мужчины с СД 1 типа.

***Клинический пример № 2***

Пациент А., возраст – 22 года, поступил в отделение в связи с недостижением целевых параметров гликемического контроля, предъявлял жалобы на сухость во рту, полиурию, слабость, утомляемость. Длительность СД 1 типа – 3 года. На момент поступления в отделение уровень альбуминурии А1.

Результаты исследования:

GSSG – 1,34 ммоль/л; СМП 254 – 0,11 усл. ед., ДК – 1,68 мкмоль/л; 8-ОН-2-деоксигуанозин – 6,48 нг/мл; метилглиоксаль – 2,92 нг/мл.

Расчёт прогностических коэффициентов:

$F_1 = -24{,}23 + 6{,}41 \times 1{,}34 + 0{,}63 \times 0{,}11 + 2{,}71 \times 1{,}68 + 0{,}23 \times 6{,}48 + 7{,}7 \times 2{,}92$

$F_2 = -31{,}28 + 7{,}73 \times 1{,}34 - 1{,}67 \times 0{,}11 + 3{,}32 \times 1{,}68 + 0{,}32 \times 6{,}48 + 8{,}38 \times 2{,}92$

Результат:

$F_1 = 12{,}95$

$F_2 = 11{,}0$

Заключение: таким образом, $F_2 < F_1$, что позволяет прогнозировать низкий риск возникновения диабетической нефропатии у мужчины с СД 1 типа.

## 3.5 Изменение показателей окислительного, карбонильного стрессов и маркеров почечного повреждения у мужчин с сахарным диабетом 1 типа в динамике лечения препаратом α-липоевой кислоты

Далее нами были проанализированы данные, полученные после лечения препаратом α-липоевой кислоты. Всем пациентам к основной базис-болюсной инсулинотерапии был добавлен препарат α-липоевой кислоты (Sol. Ac. Thioctici 600,0 + Sol. NaCl 200,0 внутривенно, на протяжении 10 дней). У пациентов с СД 1 типа двух исследуемых групп (А1 и А2) после проведённого лечения были измерены показатели окислительного, карбонильного стрессов, а также параметры почечного повреждения – подокаликсина и β2-микроглобулина.

Современная антиоксидантная терапия представлена различными препаратами (препараты α-липоевой кислоты, α-токоферола, витамина С, селена и др.), которые широко применяются не только для лечения сахарного диабета, но и других системных заболеваний [4, 11]. α-ЛК – один из самых эффективных поглотителей свободных радикалов, является частью системы АОЗ, а также кофактором различных метаболических реакций организма [11]. Согласно полученным результатам, изменений в содержании продуктов липопероксидации относительно данных до лечения выявлено не было. При этом относительно

контроля отмечался рост концентрации вторичных продуктов липопероксидации – КД и СТ, которые являются промежуточными продуктами ПОЛ и образуются на этапе последующего преобразования первичных метаболитов, что свидетельствует о наличии дизрегуляторных процессов в организме [60, 65]. В частности, можно говорить о нарушениях проницаемости мембран и пролиферативной активности клеток, то есть реакций, в которые непосредственно вовлечены первичные продукты ПОЛ.

В предыдущей главе нами были отмечены статистически значимо более высокие значения ДК, КД и СТ и пониженные уровни ТБК-АП у больных группы А1 (Рисунок 7). Анализ результатов у пациентов данной группы после лечения относительно контроля показал повышенные значения КД и СТ ($p = 0{,}029$) и сниженные уровни ТБК-АП ($p < 0{,}001$) (Рисунок 7).

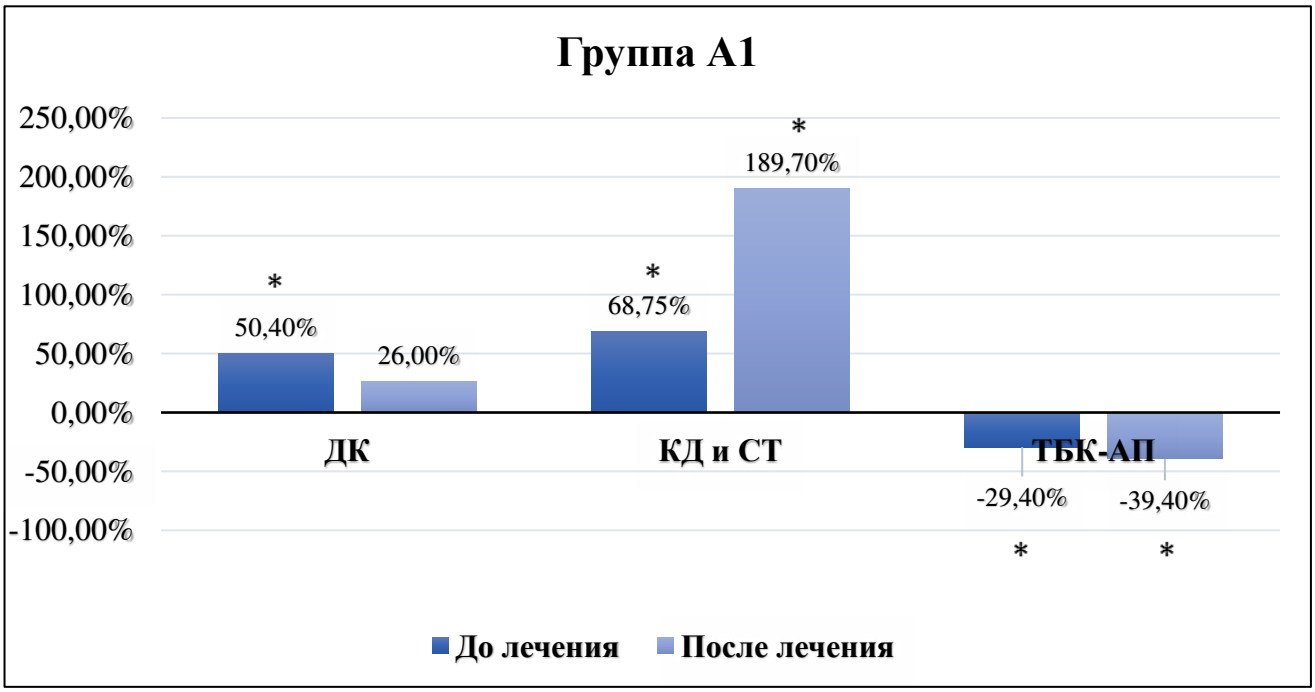


Рисунок 7 – Изменение уровня продуктов липопероксидации у мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, группы А1 после проведённого лечения: * – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой

В группе пациентов А2 до лечения аналогично регистрировались повышенные значения ДК, КД и СТ и пониженные уровни ТБК-АП (Рисунок 8).

После лечения в данной группе имели место более высокие значения КД и СТ ($p < 0{,}0001$) и более низкие концентрации ТБК-АП ($p = 0{,}038$) относительно контрольных значений (Рисунок 8). Статистически значимые различия в показателях до и после проведённой терапии были зафиксированы в отношении сниженных значений ДК ($p < 0{,}001$) после лечения.

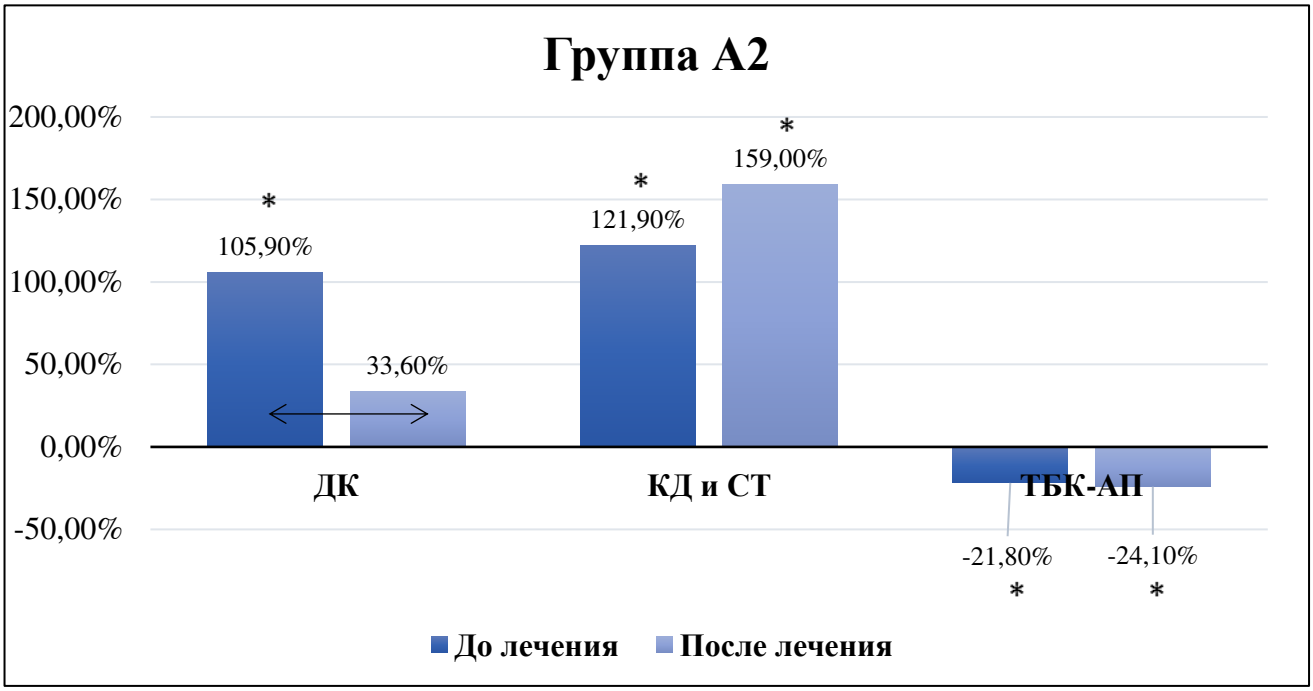


Рисунок 8 – Изменение уровня продуктов липопероксидации у мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, группы А1 после проведённого лечения: * – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой, ↔ – статистически значимые различия с показателями до лечения

В группе А2 изменения в уровне продуктов ПОЛ после лечения были сходными с группой А1, при этом уровень первичных продуктов – ДК – статистически значимо снижался относительно данных до лечения. Рост КД и СТ отмечался так же, как и в группе А1, хотя и менее интенсивно. Установлено, что активация ПОЛ выступает в качестве триггерного механизма, обеспечивающего доступность липопротеидных комплексов мембран и свободных цитоплазматических белков для фосфолипаз и протеаз [123, 143]. В данном случае целесообразно говорить об адекватном реагировании неспецифической системы

липопероксидации на проводимое лечение. Известно, что α-липоевая кислота способствует нормализации процессов окисления жирных кислот, предотвращает повреждение активными формами кислорода белковых молекул и ДНК [4, 11, 42, 61, 130]. Отмечено, что применение препарата липоевой кислоты в лечении больных сахарным диабетом, получавших базисную сахароснижающую терапию, приводило к снижению интенсивности свободнорадикального окисления, повышению активности основных антиоксидантных ферментов и показателя общей антиоксидантной активности, снижению продуктов липопероксидации на различных этапах [2]. Имеются и другие свидетельства о протекторном влиянии липоевой кислоты на антиоксидантную систему больных сахарным диабетом [39, 149].

В отношении показателя деструкции ДНК – 8-OHdG – в группе А1 не было получено статистически значимых изменений в сравнении с контролем как до, так и после лечения ($p > 0,05$) (Рисунок 9). При этом значения МГ статистически значимо увеличивались относительно контроля и до и после лечения (Рисунок 9).

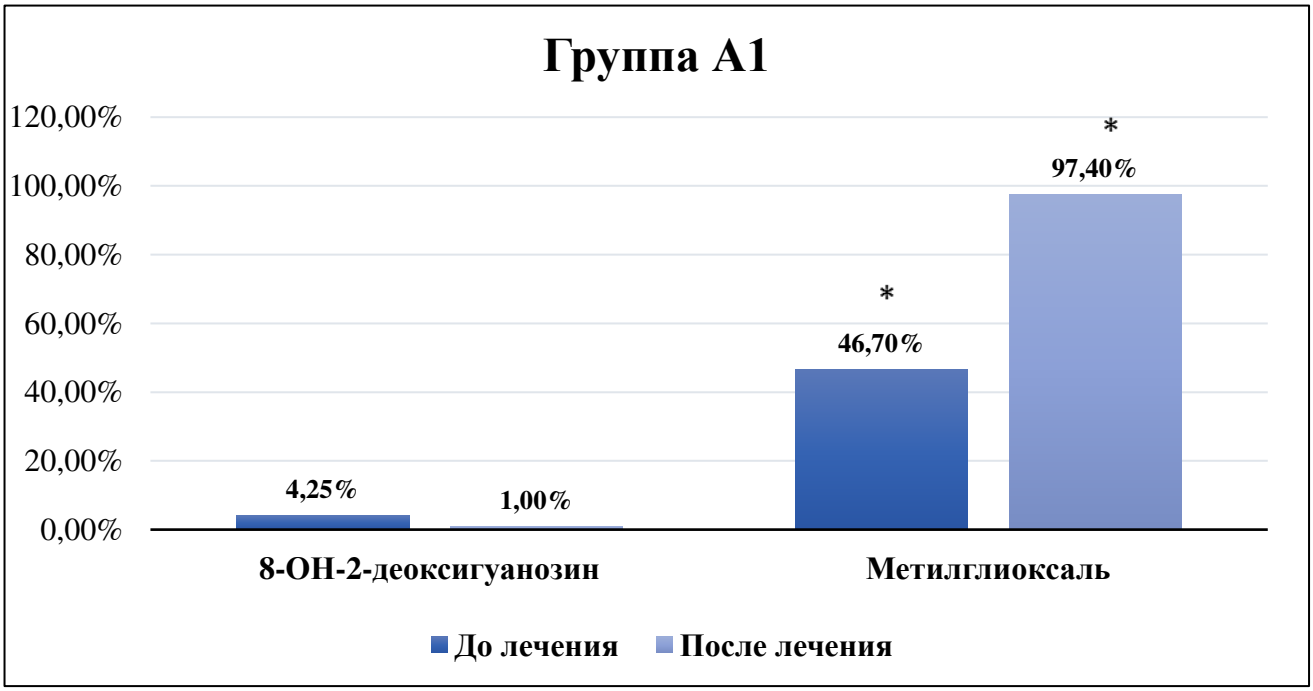


Рисунок 9 – Показатели повреждения ДНК и карбонильного стресса у мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, группы А1 после проведённого лечения: * – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой

В отношении 8-OHdG и МГ в группе А1 после проведённого лечения статистически значимых изменений в сравнении с данными этой группы до лечения не наблюдалось ($p > 0,05$). При этом отмечался рост МГ в группе после лечения относительно контроля. Гликотоксины, к которым относится и МГ, относятся к конечным продуктам гликирования и формируются в ходе неферментативной реакции между углеводами и аминогруппами белков, липидов и нуклеиновых кислот [70]. Для них характерно медленное разложение с последующим длительным внутрисосудистым сохранением [74]. Повышенное содержание данных метаболитов, в особенности после проведённой терапии, безусловно, может выступать дополнительным патогенетическим механизмом, обусловливающим дальнейшее снижение почечной функции.

Группа А2 отличалась повышенным уровнем 8-OHdG относительно контроля, при этом после лечения его значения снижались и практически достигали контрольных значений (Рисунок 10). Концентрация МГ относительно контроля характеризовалась более высокими значениями как до, так и после лечения ($p < 0,0001$). Различий до и после лечения в исследуемых показателях не наблюдалось ($p > 0,05$).

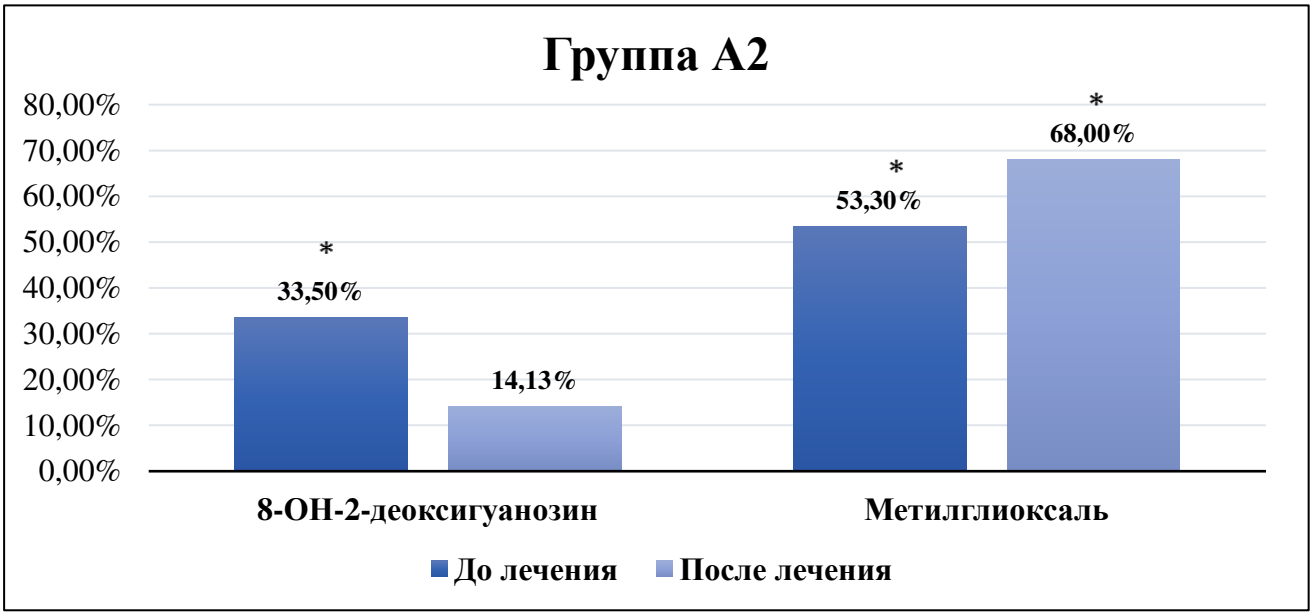


Рисунок 10 – Показатели повреждения ДНК и карбонильного стресса у мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, группы А2 после проведённого лечения: * – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой

Группа А2 отличалась более выраженным накоплением 8-OHdG в сравнении с группой А1 как до, так и после лечения. При этом отмечалось значительное снижение значений данного показателя в крови пациентов группы А2 после лечения. Отрицательное значение окислительных повреждений на уровне клетки характеризуется нарушением функций не только белков и липидов, но и нуклеиновых кислот [67]. Гуанозин считается наиболее окисляющимся нуклеиновым основанием, а кумуляция продуктов его окисления (8-OHdG) выражает глубину повреждений генетического аппарата клеток [35, 67, 147]. Можно сказать, что используемая антиоксидантная терапия благотворно влияет на данные характеристики у больных группы А2. Накопление метилглиоксаля в группе А2 отмечалось подобно группе А1 и оставалось повышенным относительно контроля и после лечения α-липоевой кислотой. Известно, что метилглиоксаль продуцируется в процессе ПОЛ (полиненасыщенных жирных кислот), гликирования, а также при окислении радикалов некоторых аминокислот [18, 20, 82]. Его накопление происходит в условиях интенсификации свободнорадикальных преобразований в клетках.

Активность компонентов системы АОЗ в исследуемых группах также подвергалась изменениям после проведенной терапии. Так, в группе А1 возрастала общая АОА крови ($p < 0{,}001$) относительно данных до лечения (Рисунок 11). α-токоферол после лечения снижался ($p = 0{,}008$), а ретинол возрастал ($p < 0{,}001$) относительно контрольных значений (Рисунок 11).

В целом группа А1 демонстрировала положительные изменения в системе АОЗ после проведённого лечения α-липоевой кислотой. Более высокий уровень общей АОА и ретинола может свидетельствовать о результативности применения данного антиоксидантного препарата. Так, выявлено, что ретинол является сильным антиоксидантом и необходимым элементом питания [88]. Как антиоксидант он принимает активное участие в защите биомембран от повреждения супероксидным радикалом, пероксидными радикалами и т. д. [98]. Высокий редокс-потенциал позволяет рассматривать препарат α-ЛК в качестве универсального антиоксиданта, способного как в окисленной, так

и в восстановленной форме нейтрализовать большинство продуктов ПОЛ, гидроксильные радикалы и синглетный кислород [202]. Кроме того, имея в своём составе гидрофильный и гидрофобный участки, α-ЛК проявляет активность как в цитозоле и сыворотке крови, так и в биологических мембранах [140]. Ещё одним важным свойством α-ЛК является способность регенерировать другие эндогенные антиоксиданты, в частности жиро- и водорастворимые витамины [148, 208]. Таким образом, рост значений ряда компонентов АОЗ можно объяснить способностью α-LA регенерировать данные соединения. Негативным моментом в данном случае может являться отсутствие изменений в концентрации другого антиоксиданта – α-токоферола.

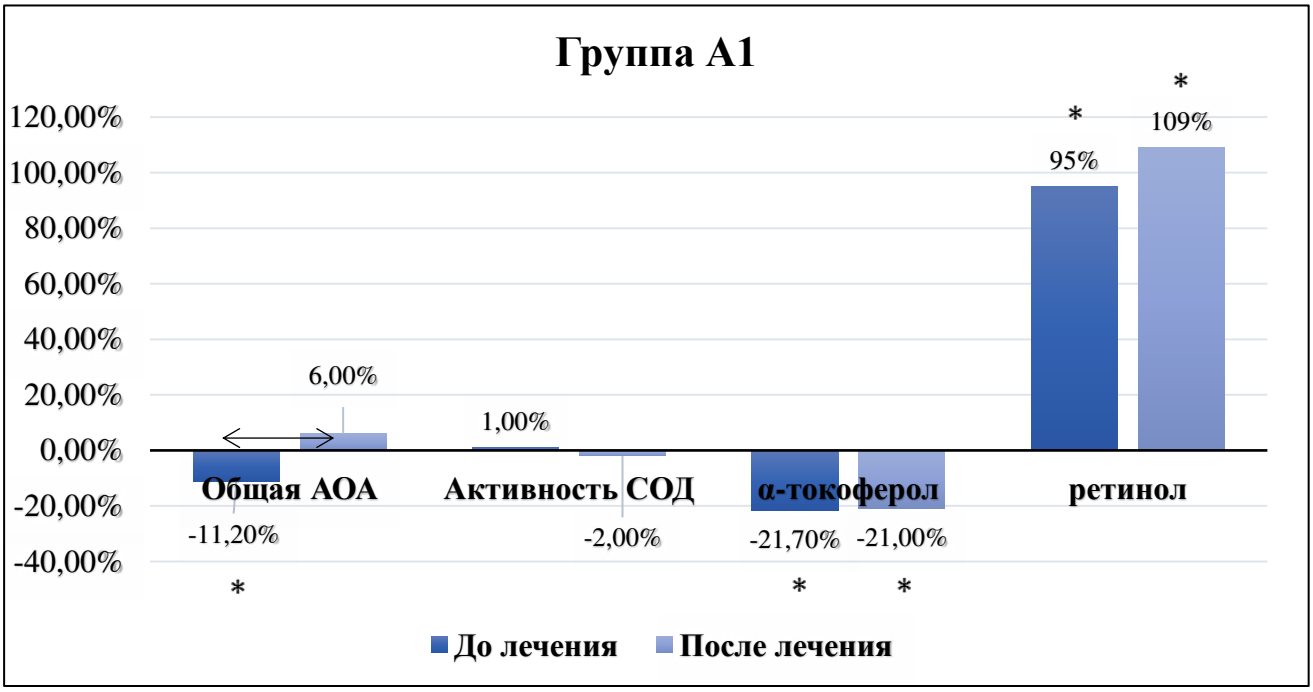


Рисунок 11 – Изменение уровня общей АОА и компонентов системы АОЗ у мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, группы А1 после проведённого лечения: * – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой; ↔ – статистически значимые различия с показателями до лечения

В группе А2 после лечения отмечался рост значений ретинола, так же, как и в группе до лечения относительно контроля (Рисунок 12). Статистически значимых

изменений в показателях после лечения относительно данных до терапии выявлено не было ($p > 0,05$).

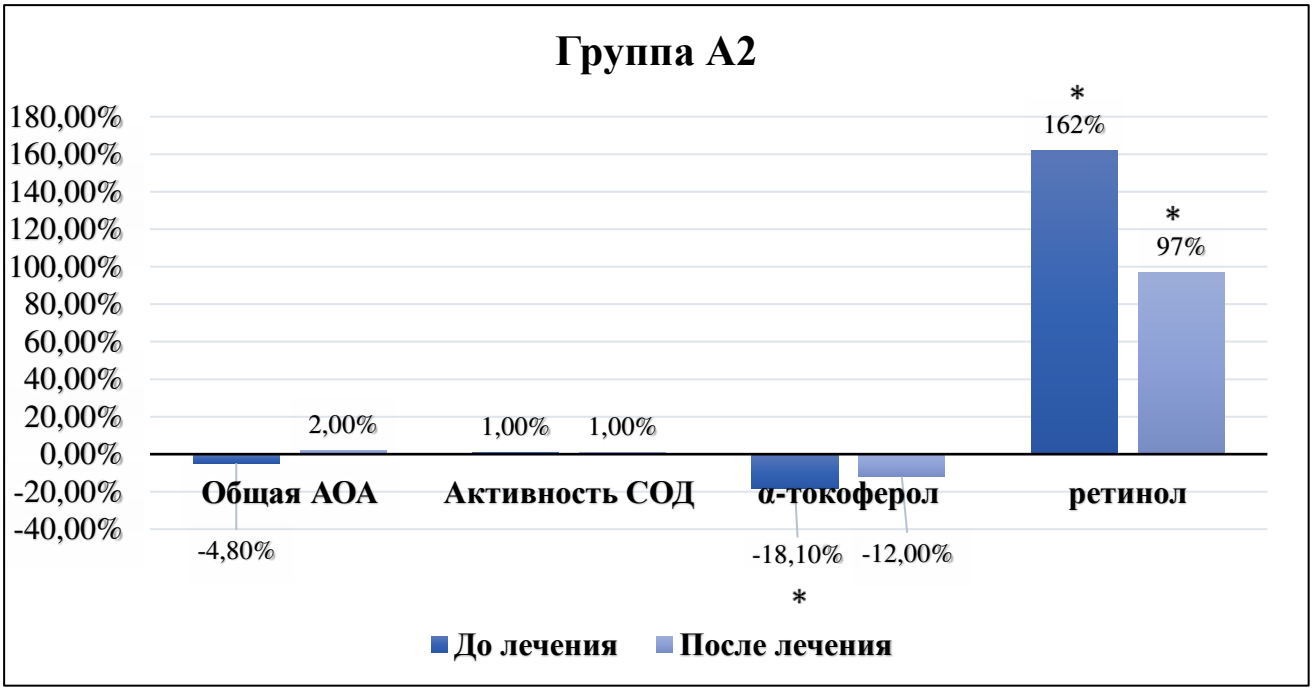


Рисунок 12 – Изменение уровня общей АОА и компонентов системы АОЗ у мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, группы А2 после проведённого лечения: * – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой

отмечался рост значений ретинола, хотя и менее выраженный. Установлено, что при экзогенном введении α-ЛК оказывает выраженные противовоспалительный, гипогликемический и антиоксидантный эффекты [202]. α-ЛК также способствует восстановлению эндотелиальной дисфункции и впоследствии снижает артериальное давление [79]. Рост значений ретинола можно объяснить способностью α-ЛК регенерировать восстановленные формы других антиоксидантов, таких как витамины.

Более выраженные отличия в показателях АОЗ были получены в системе глутатиона (Рисунок 13). Так, после лечения α-липоевой кислотой в группе А1 отмечался значимый рост значений Г-S-Т как в сравнении с контролем ($p = 0,013$), так и относительно данных до лечения ($p = 0,006$). Активность ГПО также

возрастала в сравнении с данными до лечения ($p$ = 0,043), но оставалась сниженной относительно контроля (Рисунок 13).

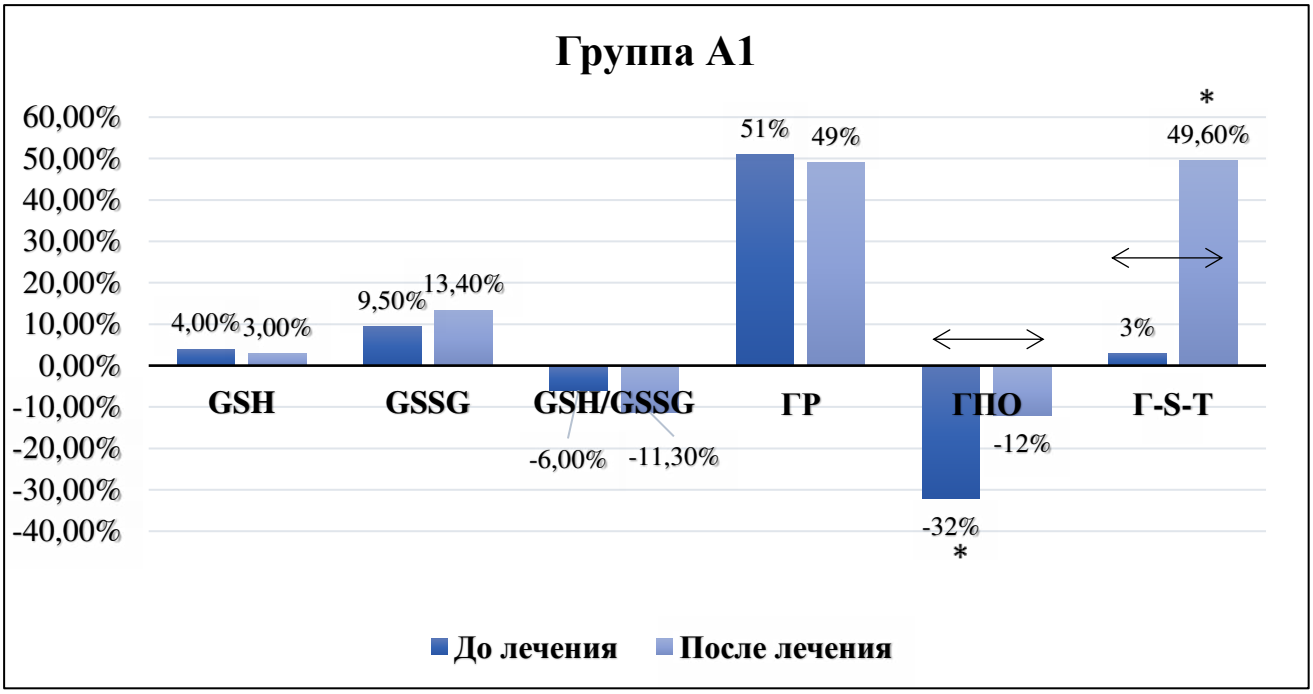


Рисунок 13 – Состояние системы глутатиона у мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, группы А1 после проведённого лечения: * – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой; ↔ – статистически значимые различия с показателями до лечения

В естественных условиях α-ЛК, как правило, содержится в митохондриях клеток, где она связана с субъединицей Е2 и действует как кофермент для пируватдегидрогеназы и α-кетоглутаратдегидрогеназы [177]. α-ЛК синтезируется в организме *de novo* из жирных кислот и цистеина в небольших количествах, следовательно, экзогенные источники α-ЛК имеют большое значение [30,47]. Ряд авторов считают, что α-липоевая кислота снижает интенсивность процессов свободнорадикального окисления за счёт обезвреживания АФК, нормализации активности некоторых антиоксидантных ферментов, а также восполнения содержания неферментативных компонентов АОЗ (глутатион, убихинон) [2, 49]. Отмечено, что α-липоевая кислота может выполнять роль редуктанта и при снижении редокс-потенциала участвует в реакциях

восстановления глутатиона [30,48]. Таким образом, представляется закономерным рост активности ряда глутатион-зависимых ферментов у пациентов группы А1 после проведённой терапии.

В группе больных А2 после антиоксидантной терапии было зарегистрировано снижение концентраций GSH ($p = 0{,}035$) и GSSG ($p = 0{,}042$) относительно данных до лечения (Рисунок 14). Относительно контроля происходил рост значений ГР ($p = 0{,}049$) и GSSG ($p = 0{,}009$).

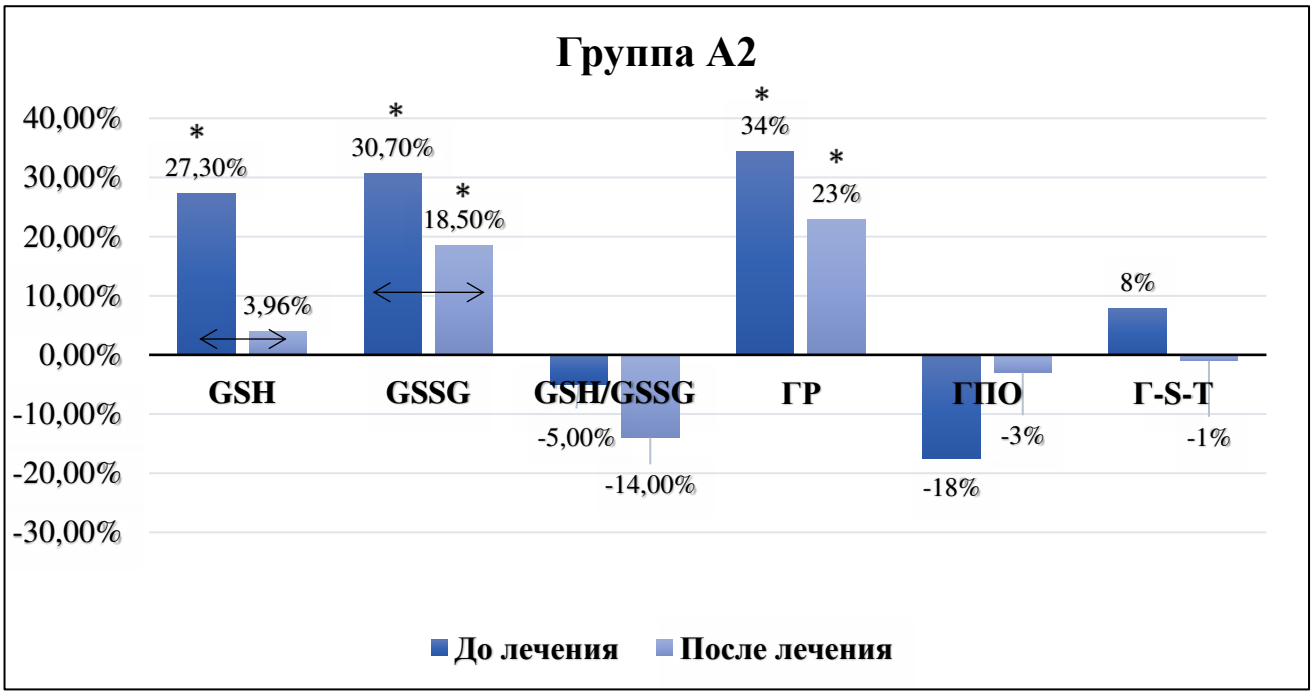


Рисунок 14 – Состояние системы глутатиона у мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, группы А2 после проведённого лечения: * – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой; ↔ – статистически значимые различия с показателями до лечения

В группе А2 после лечения получены результаты по снижению концентрации как окисленной, так и восстановленной форм глутатиона. При этом уровень GSSG оставался повышенным относительно контроля. Литературные источники свидетельствуют о том, что α-липоевая кислота может проявлять не только антиоксидантные, но и прооксидантные свойства [119]. Так, в экспериментальных условиях развития сахарного диабета было показано, что внутримышечное введение

липоевой кислоты нормализовало активность каталазы, но не снижало содержание ТБК-активных продуктов [30, 80]. В исследовании на здоровых мышах показано, что липоевая кислота в дозе 10 мг/кг через сутки после введения повышала концентрацию глутатиона и активность ГР, однако активность других глутатионзависимых ферментов – глутатионтрансферазы и ГПО – снижалась, а также нарастала концентрация производных тиобарбитуровой кислоты [30]. Ряд других исследований подтверждал приведённые выше результаты, касающиеся прооксидантных свойств α-липоевой кислоты и дальнейшего возникновения дисбаланса в системе глутатиона [11].

Концентрация СМП после лечения снижалась только в группе А1: СМП 238 ($p = 0{,}014$) и СМП 254 ($p = 0{,}026$) относительно данных до лечения (Рисунок 15). Относительно контрольных значений уровень СМП 238 после лечения возрастал ($p = 0{,}032$), а СМП 280 – снижался ($p < 0{,}0001$) (Рисунок 15).

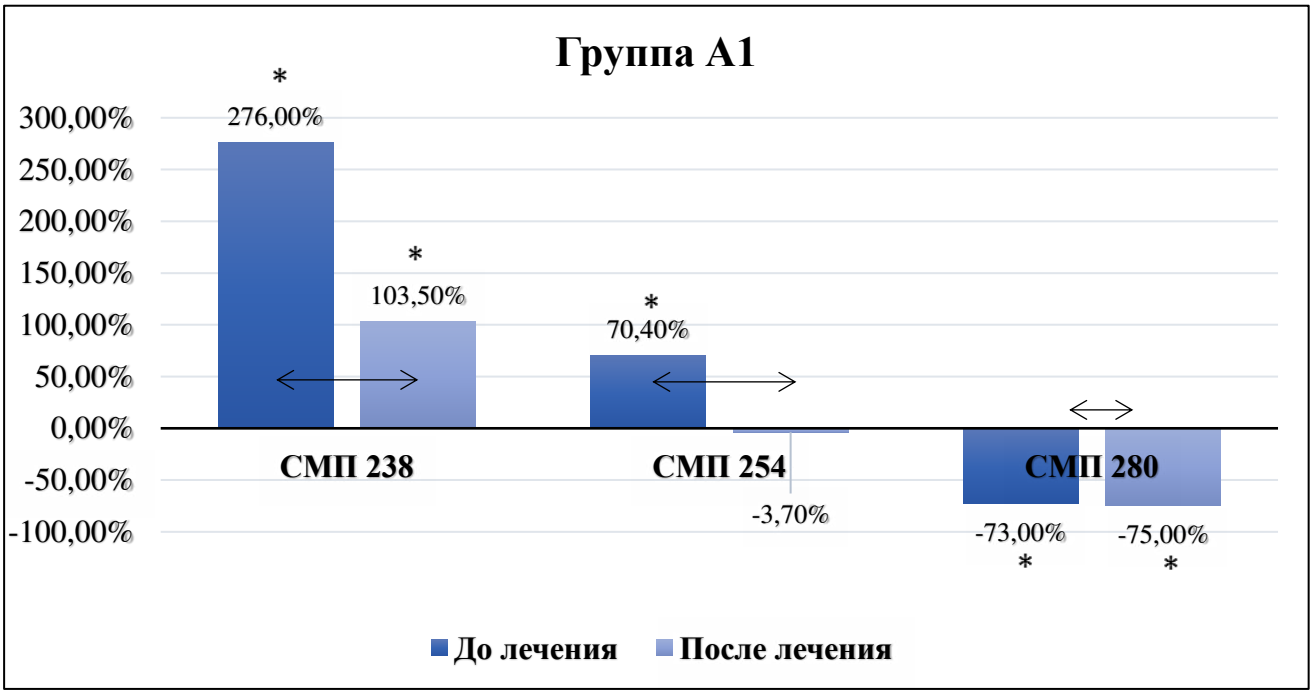


Рисунок 15 – Показатели СМП у мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, группы А1 после проведённого лечения: * – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой; ↔ – статистически значимые различия с показателями до лечения

В целом в группе А1 после лечения α-липоевой кислотой отмечалась положительная динамика в отношении показателей эндогенной интоксикации. Патогенез СД 1 типа неизменно связан с синдромом метаболической интоксикации [30, 55]. Вследствие этого представляется актуальной возможность использования в комплексе лечения пациентов с данной патологией современного метаболически активного препарата – α-липоевой кислоты [13]. Существенной особенностью СМП является их высокая биологическая активность, так как соединения данной группы способны ещё более усугублять метаболические нарушения, ставшие причиной их синтеза, по типу «порочного круга» [9]. На клеточном уровне СМП проявляют цитолитический эффект, обеспечивая активацию лизосомальных ферментов, блокировку митохондриальной энергетики, стимулирование свободнорадикальных процессов [60]. Снижение СМП у пациентов группы А1 после лечения может свидетельствовать о благоприятном эффекте используемой антиоксидантной терапии. Ряд авторов отмечают, что эффективность проводимых патогенетически обусловленных мероприятий по детоксикации чётко отражается на уровне СМП плазмы крови, а динамика их содержания является критерием эффективности применяемой терапии [60].

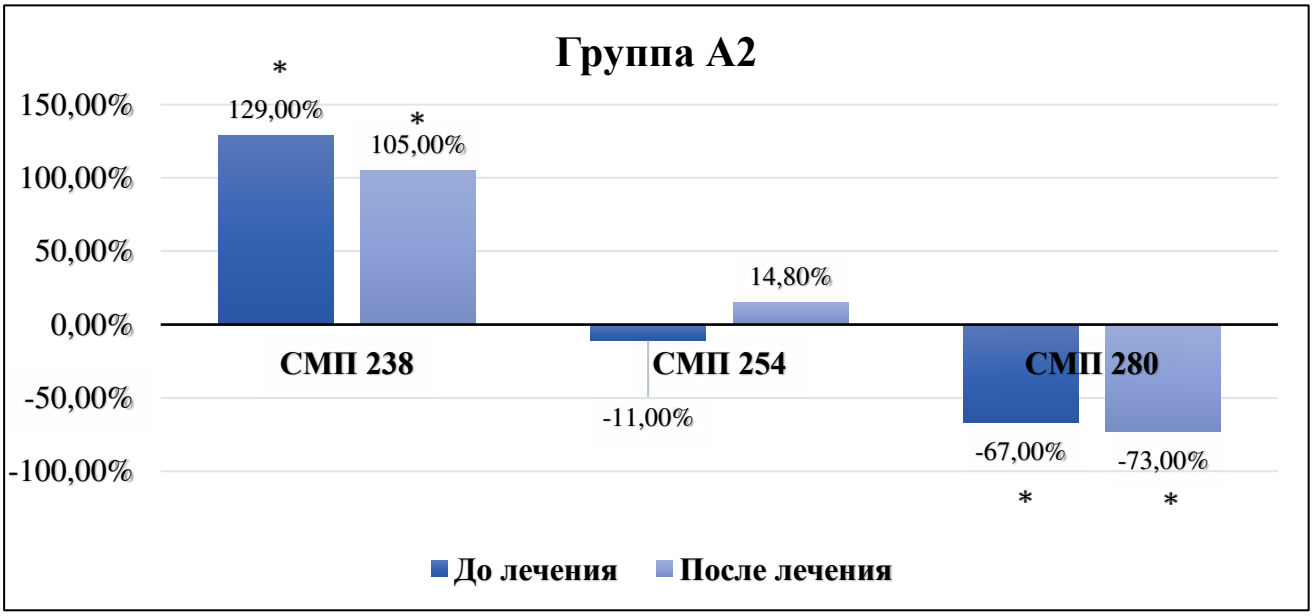


Рисунок 16 – Показатели СМП у мужчин, больных сахарным диабетом 1 типа, группы А2 после проведённого лечения: * – статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой

В группе А2 данные показатели после лечения менялись только относительно контрольных значений: отмечалось повышение СМП 238 ($p < 0,001$) и снижение СМП 280 ($p < 0,0001$) (Рисунок 16).

Экспериментальные исследования показали, что дефицит синтетазы липоевой кислоты вызывает манифестацию микроальбуминурии, способствует утолщению базальной мембраны клубочков, разрастанию мезангиального матрикса [118]. При этом отмечено, что лечение α-липоевой кислотой значительно снижало содержание малонового диальдегида (МДА) и увеличивало активность супероксиддисмутазы в сыворотке и корковом веществе почек [100]. Существует тесная связь между накоплением СМП и усилением свободнорадикальных процессов в организме, которые приводят к образованию продуктов перекисного окисления [9, 48, 139]. Существенное снижение СМП 280 в крови пациентов группы А2 после лечения, безусловно, может иметь положительный эффект в отношении начальных морфофункциональных нарушений в почках.

В целом можно сказать, что группа А1 после проведённого лечения α-ЛК демонстрировала лучшую динамику изменений в системе АОЗ в сравнении с группой А2. Более высокий уровень ряда антиоксидантных факторов может свидетельствовать о результативности применения данного антиоксидантного препарата в группе А1.

# ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С каждым годом растёт количество пациентов с СД как в России, так и во всём мире. Вместе с ростом заболеваемости увеличивается и количество пациентов с сосудистыми осложнениями, приводящими к ранней инвалидизации и высокой смертности. Особое место среди осложнений занимает диабетическая нефропатия, которая чаще встречается у пациентов с СД 1 типа – пациентов молодого трудоспособного возраста. В связи с этим особую значимость имеет ранняя диагностика ДН ещё на доклинических стадиях с целью своевременного назначения пациентам нефропротективной терапии, позволяющей стабилизировать почечную функцию и способствовать регрессу (ремиссии) ДН. Однако имеющиеся на сегодняшний день маркеры для диагностики ДН (альбуминурия, альбумин/креатининовое соотношение в моче) могут транзиторно изменяться под действием различных факторов, а при использовании этих параметров как диагностического критерия даже при последующем назначении нефропротекции большая часть пациентов не достигает ремиссии ДН. Сложность достижения регресса при ДН вызвана ещё и полиэтиологичностью патогенеза данного осложнения. Большой вклад в формирование почечных повреждений при СД 1 типа вносят окислительный и карбонильный стрессы, а также возникающая на фоне гипергликемии эндогенная интоксикация. Всё это приводит к необходимости поиска более ранних и специфичных маркеров почечного повреждения у пациентов с СД 1 типа, а также установления наиболее информативных показателей риска развития начальных проявлений диабетической нефропатии.

В связи с вышеизложенным ***целью работы*** было выявить закономерности изменений показателей окислительного и карбонильного стрессов и их взаимосвязь с уровнем почечных маркеров – подокаликсина и β2-микроглобулина у мужчин с сахарным диабетом 1 типа для разработки способов раннего прогнозирования и коррекции диабетической нефропатии.

На **первом этапе** работы была оценена интенсивность окислительного, карбонильного стрессов и компонентов эндогенной интоксикации у мужчин с сахарным диабетом 1 типа в сравнении с контрольной группой. Пациенты с СД 1 типа были разделены на две группы в соответствии с уровнем альбуминурии – стадии А1 и А2. Согласно полученным данным, в группах А1 и А2 по сравнению с контролем определялись сходные изменения: более высокие уровни ДК, КД и СТ, сниженные значения ТБК-АП. Причём группа А2 отличалась более высоким уровнем ДК в сравнении с группой А1. Полученные данные согласуются с представлением о воздействии продуктов ПОЛ на формирование и течение ДН с прогрессированием альбуминурии. Формирующиеся в процессе ПОЛ токсичные продукты могут повреждать структуру белков, липопротеидов, нуклеиновых кислот и т. д., что чревато, в свою очередь, активацией апоптотических реакций, снижением пролиферации, ингибированием роста клеток, синтеза ДНК. Также в группах было проведено исследование уровня 8-OHdG как одной из основных форм свободнорадикального повреждения ДНК. Был зафиксирован более высокий уровень данного параметра у пациентов в группе А2 в сравнении с контролем и группой А1. Повышение уровня 8-OHdG у пациентов группы А2 может не только отражать окислительные повреждения в ДНК, но и служить сигналом прогрессирования ДН. При оценке интенсивности реакций карбонильного стресса определялся уровень МГ. Повышение данного параметра фиксировалось в обеих группах пациентов с СД 1 типа. Рост уровня МГ у пациентов может также служить негативным признаком развития и прогрессировании ДН.

В системе АОЗ в группе А1 было зафиксировано снижение уровня общей АОА относительно контрольных значений. В обеих группах пациентов с СД 1 типа определялся более низкий уровень α-токоферола в сравнении с контролем. Уровень ретинола, наоборот, увеличивался в обеих группах по отношению к контрольным значениям. Данные изменения можно расценивать как дизрегуляцию параметров АОЗ у пациентов с СД 1 типа уже на стадии А1, а с течением времени и прогрессированием ДН данные изменения сохраняются. Также статистически значимые отличия были зафиксированы в системе глутатиона. Так, активность

ГПО была ниже в группе А1 по сравнению с контрольными значениями. В группе А2 были зафиксированы более высокие уровни ГР, GSH и GSSG по сравнению с контролем. При этом группа А2 характеризовалась более высокими значениями ДК, GSH и GSSG по отношению к группе А1. В качестве суммарного показателя, характеризующего уровень продуктов липопероксидации и факторов антиоксидантной защиты, был исследован коэффициент окислительного стресса как интегративный показатель изменений в системе липопероксидации. В группах пациентов А1 и А2 при сравнении с контролем и в рамках межгруппового сравнения статистически значимых отличий по данному показателю выявлено не было, при этом отмечалась тенденция к повышению данного параметра в группе А2.

Как параметры эндогенной интоксикации были исследованы уровни СМП 238, СМП 254, СМП 280, которые представляют собой фрагменты эндогенных белков, формирующихся в процессе протеолиза. Активация каскада реакций ПОЛ, как правило, характеризуется повышением уровня СМП, что отражает усиление катаболических процессов. При исследовании данных параметров у пациентов с СД 1 типа в группе А1 определялись высокие значения СМП 238 и СМП 254; у пациентов группы А2 определялось повышение СМП 238. Повышение уровня СМП, согласно литературным данным, может вызывать разобщение процессов окислительного фосфорилирования, нарушение микроциркуляции, угнетение ферментов углеводного и энергетического метаболизма.

Таким образом, было выявлено, что у пациентов с СД 1 типа вне зависимости от стадии альбуминурии регистрируются окислительные повреждения основных структурных компонентов клеток – липидов, белков и ДНК, высокая активность процессов эндогенной интоксикации. Отмечается разнонаправленная активность антиоксидантных факторов у пациентов данных групп, свидетельствующая о различной реактивности звеньев антиоксидантной защиты в условиях манифестации диабетической нефропатии. Обращают на себя внимание

изменения, имеющие место уже на 1-й стадии заболевания, определяемой стандартными тестами.

На **втором этапе** исследования нами были оценены параметры почечного повреждения у мужчин с СД двух групп в сравнении с контрольной группой. В качестве ранних маркеров почечного повреждения определялись уровни подокаликсина и β2-микроглбулина в моче. В отношении β2-микроглобулина статистически значимых отличий в группах выявлено не было. При анализе полученных данных были выявлены статистически значимые отличия по уровню подокаликсина, повышение которого отмечалось в обеих группах пациентов с СД 1 типа, причём более высокие значения были зафиксированы в группе А1. Подокаликсин как специфический белок, экспрессирующийся на поверхности подоцитов, показал свою значимость в экспериментальных исследованиях. Данный маркер отражает повреждение клубочкового аппарата почки, проявляющегося подоцитурией. В группе А1 91,4 % пациентов (30 человек) по сравнению с контрольной группой имели повышение уровня подокаликсина, а в группе А2 – 74 % пациентов (26 человек). Уровень подокаликсина интересен с точки зрения его диагностической значимости в качестве маркера почечной дисфункции при сравнении с классическими маркерами диагностики ДН. С целью оценки данной возможности нами был проведён сравнительный анализ площадей под характеристическими кривыми, в результате которого были выявлены наилучшие значения чувствительности (60,0) и специфичности (92,9) для подокаликсина. По данным проведённого анализа «cut-off» составил 1,76, тем самым продемонстрировав, что подокаликсин может использоваться как параметр диабетической нефропатии в начальной стадии.

При исследовании **корреляционных зависимостей** в контрольной группе установлено 8 положительных и 6 отрицательных связей. Зафиксированы статистически значимые зависимости между КД и СТ и ГР, ТБК-АП и МГ, МГ и GSH, СОД и ГПО, ГР и GSH, СМП 238 и СМП 254, СМП 238 и GSSG, СМП 254 и СМП 280. При анализе межсистемных зависимостей установлены взаимосвязи

альбумина мочи с МГ, ГР и Г-S-Т, а также альбумин/креатининового соотношения с уровнем GSH. Также нами выявлена взаимосвязь ДК с подокаликсином.

При проведении корреляционного анализа в группе мужчин с СД 1 типа стадии А1 выявлено большее количество связей: 15 положительных и 8 отрицательных: между ДК и КД и СТ, ДК и СМП 280, КД и СТ и СМП 280, ТБК-АП и α-токоферолом, ТБК-АП и ретинолом, МГ и α-токоферолом, МГ и ретинолом, МГ и СМП 280, 8-ОН-2дезоксигуанозином и GSH. Среди компонентов системы АОЗ выявлены взаимосвязи между СОД и ГР, СОД и ГПО, СОД и GSSG, ГПО и α-токоферолом, ретинолом и α-токоферолом, а также между ГПО и СМП 280, Г-S-Т и СМП 238, между альбумином мочи и уровнем 8-ОН-2-дезоксигуанозина, уровнем альбумин/креатининового соотношения и 8-ОН-2-дезоксигуанозином. Наличие зависимостей среди параметров окислительного повреждения клеток, вероятно, указывает на дестабилизацию метаболических взаимоотношений. Зависимости факторов АОЗ с конечными продуктами ПОЛ свидетельствуют о достаточной их активности в отношении конечных метаболитов и указывают на активную вовлеченность детоксицирующих эффектов системы глутатиона в отношении молекул средней массы. Указанные зависимости могут характеризовать также определённое влияние генотоксических эффектов в отношении начальных проявлений диабетической нефропатии. Заслуживают особого внимания многочисленные закономерные взаимосвязи нового почечного маркера – подокаликсина с общепринятыми маркерами (альбумин/креатининовым соотношением и альбумином мочи, а также показателем эндогенной интоксикации – СМП 280, GSH). Наличие данных зависимостей указывает на значимость воздействий исследуемого маркера в отношении разного рода метаболических показателей.

При корреляционном анализе взаимосвязей в группе мужчин с СД 1 типа стадии А2 выявлены 21 положительная и 6 отрицательных связей. Выявлены взаимосвязи между ДК и КД и СТ, ДК и ГПО, ДК и GSSG, КД и СТ и GSH, КД и СТ и GSSG, СОД и GSSG, ГПО и α-токоферолом, ГПО и ретинолом, ГПО и Г-S-Т, ГПО и ГР, ГПО и GSSG, α-токоферолом и ретинолом, что может

свидетельствовать о повышенной активности факторов системы ПОЛ–АОЗ между собой. Также выявлены взаимосвязи между ДК и СМП 280, КД и СТ и СМП 280, ГПО и СМП 280, α-токоферолом и СМП 280, ретинолом и СМП 280, GSH и СМП 280, GSSG и СМП 280. Имеют место зависимости 8-OH-2-дезоксигуанозина с ГР, ГПО, α-токоферолом, ретинолом, СМП 280. Полученные данные позволяют предположить наличие направленного действия ферментативных и неферментативных факторов системы АОЗ в отношении данного показателя.

Таким образом, при анализе корреляционных взаимоотношений было выявлено увеличение количества неустойчивых взаимосвязей положительного характера в группах пациентов с СД 1 типа стадий А1 и А2 по сравнению с контрольной группой. Значимость влияний нового почечного маркера – подокаликсина – в группе А1 выражалась наличием его тесных взаимодействий с показателями деструкции ДНК, эндогенной интоксикации и восстановленного глутатиона в группе пациентов со стадией А1 и отсутствием данных зависимостей при стадии А2.

При проведении **дискриминантного анализа** были выявлены наиболее информативные показатели, которыми оказались GSSG, СМП 254, ДК, 8-OHdG, МГ. Исследование данных параметров в рамках дискриминантного анализа позволяют отнести пациента к группе высокого или низкого риска развития ДН. Включение указанных параметров в уравнения классификационных функций позволяет рассматривать их в качестве дополнительных диагностических критериев, которые обладают высокой чувствительностью, но низкой специфичностью, и рекомендовать включать мужчин репродуктивного возраста, больных СД 1 типа, в группу риска развития начальных проявлений диабетической нефропатии с точностью 84 %.

Далее нами была проведена оценка показателей окислительного, карбонильного стрессов, а также эндогенной интоксикации у пациентов исследуемых групп на фоне лечения препаратом α-липоевой кислоты. α-липоевая кислота представляет собой один из препаратов современной антиоксидантной

терапии. После использования данного препарата в группах А1 и А2 параметры ПОЛ относительно контроля характеризовались сходными изменениями, что и до лечения – повышенными значениями КД и СТ и сниженными уровнями ТБК-АП. В группе А1 отмечались повышенные значения МГ после лечения относительно контроля. В группе А2 отмечались более высокие уровни 8-OHdG и МГ в сравнении с группой А1 как до, так и после лечения. Наиболее выраженные изменения после лечения были получены в системе АОЗ: рост общей АОА крови, Г-S-Т, активности ГПО – в группе А1; снижение уровня ДК, GSH, GSSG – в группе А2 относительно данных до лечения. В группе А1 также снижались концентрации СМП 238, СМП 254 и СМП 280 в сравнении с данными до лечения.

В целом можно сказать, что группа А1 после проведённого лечения α-липоевой кислотой демонстрировала лучшую динамику изменений в системе АОЗ в сравнении с группой А2. Более высокий уровень ряда антиоксидантных факторов может свидетельствовать о результативности применения данного антиоксидантного препарата.

На основании литературных данных и проведённого анализа была предложена концептуальная схема изменений показателей окислительного, карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и их взаимосвязей с ранними почечными маркерами у мужчин с СД 1 типа и начальными проявлениями нефропатии (Рисунок 17).

Рисунок 17 – Концептуальная схема изменений показателей окислительного, карбонильного стрессов, эндогенной интоксикации и их взаимосвязей с ранними почечными маркерами у мужчин с СД 1 типа и начальными проявлениями нефропатии: * – по данным литературы

Развитие СД 1 типа характеризуется гипергликемией и сопровождается нарушением митохондриальной биоэнергетики вследствие редокс-дисбаланса. Взаимодействие АФК с клеточными структурами – липидами, белками и ДНК – в конечном итоге приводит к их модификации с каскадом реакций окислительного стресса, сопутствующим повышением уровня прооксидантов и снижением параметров антиоксидантной защиты. Окислительный стресс различных клеточных биоструктур, в свою очередь, влечёт за собой повышение параметров карбонильного стресса. Вышеперечисленные изменения способны вызывать воспаление, эндотелиальную дисфункцию с последующим повреждением клубочкового аппарата почки и формированием фиброза. При исследовании ранних параметров ренального повреждения в обеих группах пациентов с СД 1 типа по сравнению с контрольными параметрами зафиксировано повышение уровня подокаликсина в моче, который можно считать ранним маркером почечного повреждения. Данные нарушения касаются и стадии А1, когда ярко выраженных изменений функционирования почечных структур ещё не происходит. Сформированные изменения при отсутствии коррекции неминуемо ведут к прогрессивному снижению почечной функции, усугублению ренального повреждения и выраженной потери белка с мочой – формированию необратимой даже в условиях нефропотекции стадии А3 с последующим развитием терминальной почечной недостаточности. Учитывая многогранность патогенеза ДН в качестве профилактики формирования и прогрессирования данного осложнения, можно рекомендовать проведение соответствующей коррекции реакций окислительного повреждения клеточных структур с применением препаратов с антиоксидантной активностью, к которым относится α-липоевая кислота.

# ВЫВОДЫ

1. У пациентов с сахарным диабетом 1 типа и диабетической нефропатией стадии А1 в сравнении с контролем в системе липопероксидации отмечались более высокие значения ДК ($p = 0,003$), КД и СТ ($p = 0,019$), ретинола ($p < 0,001$), на фоне сниженных уровней ТБК-активных продуктов ($p = 0,023$), общей АОА ($p = 0,011$), α-токоферола ($p = 0,009$) и активности ГПО ($p = 0,0003$).

2. У пациентов с сахарным диабетом 1 типа и диабетической нефропатией стадии А2 установлена повышенная концентрация ДК ($p < 0,0001$), КД и СТ ($p < 0,0001$), ретинола ($p = 0,005$), активности ГР ($p < 0,001$), уровня GSH ($p = 0,010$) и GSSG ($p < 0,0001$), более низкое содержание ТБК-активных продуктов ($p = 0,023$) и α-токоферола ($p = 0,033$) относительно контроля. Относительно стадии А1 наблюдались более высокие значения ДК ($p = 0,011$), GSH ($p = 0,027$) и GSSG ($p = 0,03$).

3. Показатель деструкции ДНК – 8-OHdG – обнаруживал более высокие значения только в группе А2 как в сравнении с контролем ($p = 0,010$), так и в сравнении с группой А1 ($p = 0,010$). Параметр карбонильного стресса – МГ – возрастал относительно контроля как в группе А1 ($p < 0,001$), так и в группе А2 ($p < 0,001$). Показатели эндогенной интоксикации – среднемолекулярные пептиды – претерпевали следующие изменения: повышенные значения СМП 238 ($p < 0,0001$), СМП 254 ($p = 0,020$) и сниженные – СМП 280 ($p < 0,0001$) в группе А1 относительно контроля и повышенные значения СМП 238 ($p = 0,003$) и сниженные СМП 280 ($p < 0,0001$) в группе А2 относительно контроля.

4. У пациентов с сахарным диабетом 1 типа были установлены более высокие значения подокаликсина в группах А1 ($p = 0,003$) и А2 ($p = 0,004$) относительно контроля. Статистически значимых различий в отношении β2-микроглобулина выявлено не было. Сравнительный анализ площадей под характеристическими кривыми ранних (подокаликсин и β2-микроглобулин) и классических (альбумин мочи и соотношение альбумин/креатинин в моче)

почечных маркеров также показал наилучшие значения чувствительности (60,0) и специфичности (92,9) для подокаликсина.

5. Анализ корреляционных взаимоотношений показал увеличение количества неустойчивых взаимосвязей положительного характера в группах пациентов с сахарным диабетом 1 типа и диабетической нефропатией стадий А1 и А2 по сравнению с контрольной группой. Значимость влияний нового почечного маркера – подокаликсина – в группе А1 выражалась наличием его тесных взаимодействий с показателями деструкции ДНК, эндогенной интоксикации и GSH в группе пациентов со стадией А1 и отсутствием данных зависимостей при стадии А2.

6. Выявлены наиболее значимые факторы прогнозирования начальных стадий диабетической нефропатии: GSSG, СМП 254, ДК, 8-OHdG, МГ, – позволяющие обосновать проведение профилактических мероприятий по коррекции данных нарушений у мужчин с сахарным диабетом 1 типа.

7. Анализ результатов у пациентов исследуемых групп после терапии α-липоевой кислотой показал рост значений показателя общей АОА ($p$ <0,001), Г-S-Т ($p$=0,006), активности ГПО ($p$ = 0,043) в группе А1 и снижение концентрации ДК ($p$ <0,001), GSH ($p$ = 0,035) и GSSG ($p$ = 0,042) в группе А2 относительно данных до лечения. Концентрация среднемолекулярных пептидов после лечения снижалась только в группе А1 – СМП 238 ($p$ = 0,014), СМП 254 ($p$ = 0,026) и СМП 280 ($p$ < 0,0001) относительно данных до лечения.

# СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АОА – общая антиокислительная активность

АОЗ – антиоксидантная защита

АФК – активные формы кислорода

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

Г-S-Т – глутатион-S-трансфераза

ГПО – глутатионпероксидаза

ГР – глутатионредуктаза

ГС - гепаринсульфат

Дв.св. – двойные связи

ДК – диеновые коньюгаты

ДН – диабетическая нефропатия

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИМТ – индекс массы тела

ИФА – иммуноферментный анализ

КД и СТ – кетодиены и сопряженные триены

КОС – коэффициент окислительного стресса

ЛДФ – линейные дискриминантные функции

ЛККФ – линейный коэффициент классификационных функций

МГ - метилглиоксаль

МДА – малоновый диальдегид

ОС – окислительный стресс

ОХС – общий холестерин

ПОЛ – перекисное окисление липидов

СД – сахарный диабет

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

СМП – среднемолекулярные пептиды

СОД – супероксиддисмутаза

ТАГ - триацилглицериды

ТБК-АП – активные продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой

ТПН – терминальная почечная недостаточность

ХСЛПВП – липопротеины высокой плотности

ХСЛПНП – липопротеины низкой плотности

ХСЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности

8-OHdG – 8-OH-2-деоксигуанозин

α-ЛК – α-липоевая кислота

NOX - NADPH-оксидаза

GSH – восстановленный глутатион

GSSG – окисленный глутатион

$HbA_{1C}$ – гликозилированный гемоглобин

# СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Активная защита при окислительном стрессе. Антиоксидант респонсивный элемент (обзор) / В. В. Ляхович, В. А. Вавилин, Н. К. Зенков, Е. Б. Меньщикова // Биохимия. – 2006. – № 71 (9). – С. 1183–1198.

2. Альфа-липоевая кислота в коррекции электромиографических характеристик диабетической дистальной полинейропатии: фокус на маркеры окислительного стресса / О. В. Занозина, Г. П. Рунов, Н. Н. Боровков, Ю. А. Сорокина // Эффективная фармакотерапия. – 2015. – № 32. – С. 10–14

3. Балаболкин, М. И. Роль гликирования белков, окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений при сахарном диабете / М. И. Балаболкин // Сахарный диабет. – 2002. – № 4. – С. 8–16.

4. Басов, А. А. Влияние препаратов липоевой кислоты на показатели прооксидантно-антиоксидантной системы крови при сахарном диабете и гипотиреозе / А. А. Басов, К. И. Мелконян, А. П. Сторожук // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 6. – Режим доступа: https://science-education.ru/ru/article/view?id=11162 (дата обращения: 06.04.2022).

5. Бекезин, В. В. Окислительный стресс на фоне ожирения – ранний маркер метаболического синдрома у детей и подростков (обзорная статья) / В. В. Бекезин // Смоленский медицинский альманах. – 2016. – № 3. – С. 6–13.

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

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

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

9. Виткина, Т. И. Средние молекулы в оценке уровня эндогенной интоксикации при хроническом необструктивном бронхите / Т. И. Виткина // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2014. – Т. 56, № 2. – С. 70–72.

10. Владимиров, Ю. В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция / Ю. В. Владимиров, Е. В. Проскурина // Успехи биологической химии. – 2009. – Т. 49. – С. 341–349.

11. Воробьева, О. В. Альфа-липоевая кислота – спектр клинического применения / О. В. Воробьева // Медицинский алфавит. – 2012. – Т. 3, № 15. – С. 71–77.

12. Гаврилов, В. Б. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Л. М. Мажуль // Вопросы медицинской химии. – 1987. – № 1. – С. 118–122.

13. Громашевская, Л. Л. «Средние молекулы» как один из показателей «метаболической интоксикации» в организме / Л. Л. Громашевская // Лабораторная диагностика. – 1997. – № 1. – С. 11–16.

14. Губский, Ю. И. Смерть клетки: свободные радикалы, некроз, апоптоз / Ю. И. Губский. – Винница : Нова книга, 2015. – 360 с.

15. Давыдов, В. В. Карбонильный стресс как неспецифический фактор патогенеза (обзор литературы и собственных исследований) / В. В. Давыдов, А. И. Божков // Журнал НАМН Украины. – 2014. – Т. 20, № 1. – С. 25–34.

16. Давыдов, В. В. Метаболизм эндогенных альдегидов: участие в реализации повреждающего действия оксидативного стресса и его возрастные аспекты / В. В. Давыдов, А. И. Божков // Биомедицинская химия. – 2003. – Т. 49, № 3. – С. 374–387.

17. Даренская, М. А. Окислительный стресс: патогенетическая роль в развитии сахарного диабета и его осложнений, терапевтические подходы

к коррекции / М. А. Даренская, Л. И. Колесникова, С. И. Колесников // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. – Т. 171, № 2. – С. 136–149. – doi: 10.47056/0365-9615-2021-171-2-136-149

18. Дедов, И. И. Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / И. И. Дедов, М. В. Шестакова, А. Ю. Майоров // Сахарный диабет. – 2019. – Т. 22, № S1. – 211 с. – DOI: 10.14341/DM221S1

19. Дедов, И. И. Сахарный диабет у детей и подростков / И. И. Дедов, Т. Л. Кураева, В. А. Петеркова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 271 с.

20. Демидова, Т. Ю. Роль инсулинорезистентности в развитии сахарного диабета и других состояний. Современные возможности коррекции / Т. Ю. Демидова, С. Г. Зенина // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2019. – № 10 (II). – С. 116–122.

21. Дзугкоев, С. Г. Влияние комплексного лечения с коэнзимом Q10 на функциональные и метаболические показатели у больных сахарным диабетом 1-го типа / С. Г. Дзугкоев, М. Б. Калоева, Ф. С. Дзугкоева // Бюллетень экспериментальной биологии. – 2011. – Т. 152, № 9. – С. 334–336.

22. Диабетическая нефропатия / И. Е. Смирнов, А. Г. Кучеренко, Г. И. Смирнова, А. Р. Бадалян // Российский педиатрический журнал. – 2015. – Т. 18, № 4. – С. 43–50.

23. Диабетическая остеоартропатия: клиника, диагностика и лечение / М. Г. Павлова, Н. В. Лаврищева, А. А. Гусова, М. Г. Шипотько // Клиницист. – 2007. – № 6. – С. 26–31.

24. Зенков, Н. К. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты / Н. К. Зенков. – М. : МАИК «Наука/Интерпериодика», 2001. – 343 с

25. Ильин, В. П. Особенности взаимодействия процессов липопероксидации и гормональной регуляции у больных сахарным диабетом 1 типа в различные периоды становления репродуктивной системы / В. П. Ильин, М. А. Даренская, Л. И. Колесникова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2004. – Т. 1, № 2. – С. 127–133.

26. Интегральный показатель оценки окислительного стресса в крови человека / Л. И. Колесникова, Н. В. Семенова, М. А. Даренская [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – № 157 (6). – С. 680–683.

27. Карякина, Е. В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) / Е. В. Карякина, С. В. Белова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 3. – С. 3–8.

28. Клебанов, Г. И. Оценка АОА плазмы крови с применением желточных липопротеидов / Г. И. Клебанов, И. В. Бабенкова, Ю. О. Теселкин // Лабораторное дело. – 1988. – № 5. – С. 59–60.

29. Короткова, Н. В. Маркеры карбонильного стресса и резервно-адаптационный потенциал тромбированной вены при остром венозном тромбозе в эксперименте / Н. В. Короткова, И. А. Сучкова, М. А. Фомина // Флебология. – 2019. – Т. 13, № 4. – С. 278–283.

30. Кузнецова, А. А. Окисление ДНК и ее компонентов активными формами кислорода / А. А. Кузнецова, Д. Г. Кнорре, О. С. Федорова // Успехи химии. – 2009. – Т. 78, Вып. 7. – С. 714–718. – doi: 10.1070/RC2009v078n07ABEH004038

31. Лалетин, В. С. Липоевая кислота как потенциальный прооксидант / В. С. Лалетин, Л. С. Колесниченко // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – № 1. – С. 72–74.

32. Ланкин, В. З. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях : пособие для врачей / В. З. Ланкин. – М., 2001. – 78 с.

33. Лебедева, Н. О. Маркеры доклинической диагностики диабетической нефропатии у пациентов с сахарным диабетом 1 типа / Н. О. Лебедева, О. К. Викулова // Сахарный диабет. – 2012. – № 2. – С. 38–45.

34. Маханова, Р. С. К вопросу изучения перекисного окисления липидов / Р. С. Маханова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2011. – № 1. – С. 231–234.

35. Митохондриальный метаболизм активных форм кислорода: десять лет спустя / А. Ю. Андреев, Ю. Е. Кушнарева, А. Н. Мерфи, А. А. Старков // Биохимия. – 2015. – Т. 80, № 5. – С. 612–630.

36. Михалевич, И. М. Логистическая регрессия и ROC-анализ в ППП MEDCALC при анализе медико-биологических данных : учебное пособие / И. М. Михалевич, Т. Н. Юрьева. – Иркутск : РИО ИГМАПО, 2021. – 84 с.

37. Мочевая экскреция коллагена IV типа – ранний маркер фиброзирования почек при сахарном диабете / И. А. Бондарь, В. В. Климонтов, Е. М. Парфентьева [и др.] // Сахарный диабет. – 2011. – Т. 14, № 4. – С. 29–31.

38. Нагорная, Н. В. Оксидативный стресс: влияние на организм человека, методы оценки / Н. В. Нагорная // Здоровье ребенка. – 2010. – № 2. – С. 140–145.

39. Овсянников, В. Г. Нарушения углеводного обмена / В. Г. Овсянников // В кн. : Общая патология (патологическая физиология). Часть I (общая патофизиология) ; изд. 4-е. – Ростов-на-Дону : ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, 2017. – С. 158–164.

40. Окислительный и карбонильный стресс как фактор модификации белков и деструкции ДНК при сахарном диабете / В. З. Ланкин, А. К. Тихазе, Г. Г. Коновалова [и др.] // Терапевтический архив. – 2018. – Т. 90, № 10. – С. 46–50.

41. Окислительный стресс как неспецифическое звено репродуктивных нарушений (обзор) / Л. И. Колесникова, Л. А. Гребенкина, М. А. Даренская, Б. Я. Власов // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 1. – С. 58–66.

42. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания / Е. Б. Меньшикова, Н. К. Зенков, В. З. Ланкин [и др.]. – Новосибирск : АРТА, 2008. – 248 с

43. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньшикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков [и др.]. – М. : Слово, 2006. – 556 с.

44. Осложнения хронической болезни почек у пациентов с сахарным диабетом 1 типа после сочетанной трансплантации почки и поджелудочной железы – потенциальная роль окислительного стресса и конечных продуктов гликирования

/ И. И. Ларина, А. С. Северина, М. Ш. Шамхалова [и др.] // Сахарный диабет. – 2019. – Т. 22, № 5. – С. 405–416. – doi: 10.14341/DM10312

45. Особенности свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты у детей с сахарным диабетом первого типа / И. М. Быков, Л. Г. Ивченко, Д. А. Доменюк [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2017. – Т. 24, № 4. – С. 27–38. – doi: 10.25207/1608-6228-2017-24-4-27-38

46. Оценка интоксикации организма по нарушению баланса между накоплением и связыванием токсинов в плазме / В. Б. Гаврилов, М. М. Бидула, Д. А. Фурманчук [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – № 2. – С. 13–17.

47. Панькив, И. В. Эффективность терапии альфа-липоевой кислотой при синдроме диабетической стопы / И. В. Панькив // Международный эндокринологический журнал. – 2014. – № 3 (59). – С. 45–51.

48. Перспективы применения альфа-липоевой кислоты при оксидативном стрессе / В. В. Корнякова, В. Д. Конвай, И. П. Степанова [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – Т. 11, № 1. – С. 63–67.

49. Показатели эндогенной интоксикации и липопероксидации в динамике лечения α-липоевой кислотой мужчин с диабетической нефропатией в стадии микроальбуминурии / М. А. Даренская, Е. В. Чугунова, С. И. Колесников [и др.] // Клиническая нефрология. – 2021. – Т. 13, № 3. – С. 38–43.

50. Программа для расчета коэффициента окислительного стресса на основе параметров системы перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты в крови : Свидетельство о гос. регистрации программы для ЭВМ 2011617323 Рос. Федерация / Л. И. Колесникова, Л. А. Гребенкина, В. П. Олифиренко [и др.]. – № 2011615688 ; заявл. 28.07.2011 ; опубл. 21.09.2011. – 1 с.

51. Распространенность диабетической нефропатии и хронической болезни почек при сахарном диабете в Российской Федерации / О. В. Маслова, Ю. И. Сунцов, М. В. Шестакова [и др.] // Клиническая нефрология. – 2010. – № 3. – С. 45–50.

52. Роль механизмов «метаболической памяти» в развитии и прогрессировании сосудистых осложнений сахарного диабета / А. А. Черников, А. С. Северина, М. Ш. Шамхалова, М. В. Шестакова // Сахарный диабет. – 2017. – Т. 20, № 2. – С. 126–134. – doi: 10.14341/7674

53. Рыбакова, А. А. Оксидативный стресс и его роль в развитии аутоиммунных заболеваний щитовидной железы / А. А. Рыбакова, Н. М. Платонова, Е. А. Трошина // Проблемы эндокринологии. – 2019. – Т. 65, № 6. – С. 451–457. – doi: 10.14341/probl1182

54. Сазонтова, Т. Г. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма / Т. Г. Сазонтова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2007. – № 3. – С. 2–18.

55. Сахарный диабет в Российской Федерации: распространенность, заболеваемость, смертность, параметры углеводного обмена и структура сахароснижающей терапии по данным Федерального регистра сахарного диабета, статус 2017 г. / И. И. Дедов, М. В. Шестакова, О. К. Викулова [и др.] // Сахарный диабет. – 2018. – Т. 21, № 3. – С. 144–159. – doi: 10.14341/DM9686

56. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек: достижения, нерешенные проблемы и перспективы лечения / М. В. Шестакова, М. Ш. Шамхалова, И. Я. Ярек-Мартынова [и др.] // Сахарный диабет. – 2011. – № 1. – С. 81–88.

57. Свободнорадикальное окисление: взгляд патофизиолога / Л. И. Колесникова, М. А. Даренская, С. И. Колесников // Бюллетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16, № 4. – С. 16–29.

58. Современные биомаркеры повреждения почек в педиатрии / Н. Н. Смирнова, О. В. Галкина, В. П. Новикова, Н. Э. Прокопьева // Нефрология. – 2019. – Т. 23, № 4. – С. 112–118.

59. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови / И. А. Волчегорский, А. Г. Налимов, Б. Г. Яровинский [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 1989. – Т. 35, № 1. – С. 127–131.

60. Состояние показателей липопероксидации и эндогенной интоксикации у больных раком легкого / Л. В. Бельская, В. К. Косенок, Ж. Массард, А. А. Завьялов // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2016. – Т. 71, № 4. – С. 313–322.

61. Строков, И. А. Следует ли лечить диабетическую полиневропатию альфа-липоевой кислотой? / И. А. Строков, А. С. Фокина, В. А. Головачева // Эффективная фармакотерапия. – 2013 . – № 32. – С. 40–46.

62. Тиреоидный статус и витамины-антиоксиданты у девушек различных этносов / Л. И. Колесникова, М. А. Даренская, Л. А. Гребенкина [и др.] // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2015. – № 2 (101). – С. 214–221.

63. Толпыгина, О. А. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты (обзор) / О. А. Толпыгина // Acta biomedica scientifica. – 2012. – Т. 2, № 2. – С. 178–180.

64. Формирование эндотелиальной дисфункции при хронической болезни почек в условиях оксидативного стресса / Н. А. Щербань, Ю. С. Ландышев, С. С. Целуйко, М. А. Штарберг // Дальневосточный медицинский журнал. – 2010. – № 1. – С. 19–22.

65. Функционально-системные реакции организма при эндотоксикозе и их коррекция / Н. Д. Бунятян, А. П. Власов, Э. И. Начкина [и др.] // Фармация. – 2011. – № 6. – С. 43–46.

66. Хабибуллаев, С. М. Оценка функционального состояния тубулоинтестициальной системы почек у больных хроническим пиелонефритом и сахарным диабетом / С. М. Хабибуллаев, Н. Х. Мухамедова // Новые подходы в науке и образовании. – 2018. – С. 99–105.

67. Харечкина, Е. С. Механизмы генерации активных форм кислорода при пермеабилизации митохондриальных мембран / Е. С. Харечкина // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 4. – С. 139.

68. Цистатин С и коллаген IV типа в диагностике хронической болезни почек у больных сахарным диабетом 2 типа / В. В. Климонтов, Н. В. Еременко,

Н. Е. Мякина, О. Н. Фазуллина // Сахарный диабет. – 2015. – Т. 18, № 1. – С. 87–93.

69. Чеботарева, Н. В. Роль подоцитарной дисфункции в прогрессировании хронического гломерулонефрита / Н. В. Чеботарева, И. Н. Бобкова, Л. В. Лысенко // Терапевтический архив. – 2018. – № 6. – С. 92–97.

70. Черняускене, Р. Ч. Одновременное определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови / Р. Ч. Черняускене, З. З. Варшкявичене, П. С. Грибаускас // Лабораторное дело. – 1984. – № 6. – С. 362–365.

71. Чистякова, О. В. Роль окислительного стресса и антиоксидантных ферментов в развитии сахарного диабета / О. В. Чистякова, И. Б. Сухов, А. О. Шпаков // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2017. – Т. 103, № 9. – С. 987–1003.

72. Шестакова, М. В. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек: возможности прогнозирования, ранней диагностики и нефропротекции в XXI веке / М. В. Шестакова // Сахарный диабет. – 2016. – № 6. – С. 84–88. – doi: 10.17116/terarkh201688684-88

73. Экскреция с мочой маркеров повреждения подоцитов у больных сахарным диабетом / А. А. Щукина, И. Н. Бобкова, М. В. Шестакова [и др.] // Терапевтический архив. – 2015. – № 10. – С. 62–66. – doi: 10.17116/terarkh2015871062-66

74. Эпидемиология хронической болезни почек в Российской Федерации по данным Федерального регистра взрослых пациентов с сахарным диабетом (2013–2016 гг.) / М. Ш. Шамхалова, О. К. Викулова, А. В. Железнякова [и др.] // Сахарный диабет. – 2018. – Т. 21, № 3. – С. 160–169. – doi: 10.14341/DM9687

75. A differential diagnostic model of diabetic nephropathy and non-diabetic renal diseases / J. Zhou, X. Chen, Y. Xie [et al.] // Nephrol. Dial. Transpl. – 2008. – Vol. 23, № 6. – P. 1940–1945. – doi: 10.1093/ndt/gfm897

76. A new prospective on the role of melatonin in diabetes and its complications / J. X. Mok, J. H. Ooi, K. Y. Ng [et al.] // Horm. Mol. Biol. Clin. Investig. – 2019. –

Vol. 40, № 1. – j/hmbci.2019.40.issue-1/hmbci-2019-0036/hmbci-2019-0036.xml. – doi: 10.1515/hmbci-2019-0036

77. Alan, S. L. Biomarkers in acute and chronic kidney diseases / S. L. Alan, M. B. Yu. – 2020. – 369 p.

78. Alicic, R. Z. Diabetic kidney disease: Challenges, progress, and possibilities / R. Z. Alicic, M. T. Rooney, K. R. Tuttle // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. – 2017. – Vol. 12, № 12. – P. 2032–2045. – doi: 10.2215/CJN.11491116

79. Alpha-lipoic acid and antioxidant diet help to improve endothelial dysfunction in adolescents with type 1 diabetes: A pilot trial / A. Scaramuzza, E. Giani, F. Redaelli [et al.] // J. Diabetes Res. – 2015. – Vol. 2015. – P. 474561. – doi: 10.1155/2015/474561

80. Alpha-lipoic acid: molecular mechanisms and therapeutic potential in diabetes / L. Rochette, S. Ghibu, A. Muresan, C. Vergely // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 2015. – Vol. 93, № 12. – P. 1021–1027. – doi: 10.1139/cjpp-2014-0353

81. Association of diabetic ketoacidosis and HbA1c at onset with year-three HbA1c in children and adolescents with type 1 diabetes: Data from the International SWEET Registry / B. Piccini, A. Schwandt, C. Jefferies [et al.] // Pediatr. Diabetes. – 2020. – Vol. 21, № 2. – P. 339–348. – doi: 10.1111/pedi.12946

82. Association of urinary type IV collagen with GFR decline in young patients with type 1 diabetes / M. Morita, Y. Uchigata, K. Hanai [et al.] // Am. J. Kidney Dis. – 2011. – Vol. 58, № 6. – P. 915–920. – doi: 10.1053/j.ajkd.2011.04.019

83. Beta-2-microglobulin (B2M) expression in the urinary sediment correlates with clinical markers of kidney disease in patients with type 1 diabetes / M. B. Monteiro, K. Thieme, D. P. Santos-Bezerra [et al.] // Metabolism. – 2016. – Vol. 65, № 6. – P. 816–824. – doi: 10.1016/j.metabol.2016.02.012

84. Bigagli, E. Circulating oxidative stress biomarkers in clinical studies on type 2 diabetes and its complications / E. Bigagli, M. Lodovici // Oxid. Med. Cell. Longevity. – 2019. – Vol. 2019. – P. 5953685. – doi: 10.1155/2019/5953685

85. Bondia-Pons, I. R. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity / I. R. Bondia-Pons, J. A. Martinez // Physiol. Biochem. – 2012. – N 1 (68). – P. 130–139.

86. Brorsson, C. A. Shared genetic basis for type 1 diabetes, islet autoantibodies, and autoantibodies associated with other immune-mediated diseases in families with type 1 diabetes / C. A. Brorsson, F. Pociot // Diabetes Care. – 2015. – Vol. 38, Suppl. 2. – P. S8–S13. – doi: 10.2337/dcs15-2003

87. Camacho S. Is the calorie concept a real solution to the obesity epidemic? / S. Camacho, A. Ruppel // Global Health Action. – 2017. – Vol. 10, № 1. – P. 1289650.

88. Caso, G. Effect of insulin on whole body protein metabolism in children with type 1 diabetes// G. Caso, M. A. McNurlan // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. – 2010. – Vol. 13, № 1. – P. 93–96. – doi: 10.1097/MCO.0b013e328333294d

89. Ceriello, A. Clinical implications of oxidative stress and potential role of natural antioxidants in diabetic vascular complications / A. Ceriello, R. Testa, S. Genovese // Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. – 2016. – Vol. 26, № 4. – P. 285–292.

90. Changes in albuminuria but not GFR are associated with early changes in kidney structure in type 2 diabetes / H. C. Looker, M. Mauer, P.-J. Saulnier [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. – 2019. – Vol. 30, № 6. – P. 1049–1059. – doi: 10.1681/ASN.2018111166

91. Changes in the NFκB and E-cadherin expression are associated to diabetic nephropathy in Psammomysobesus / D. Aroune, F. Libdiri, S. Leboucher [et al.] // Saudi J. Biol. Sci. – 2017. – Vol. 24, № 4. – P. 843–850.

92. Clinical picture at the onset of type 1 diabetes mellitus in children / M. I. Hodgson, A. J. C. Ossa, F. N. Velasco [et al.] // Revista Medica de Chile. – 2006. – Vol. 134, № 12. – P. 1535–1540. – doi: 10.4067/s0034-98872006001200007.6

93. Clinical utility of serum beta-2-microglobulin as a predictor of diabetic complications in patients with type 2 diabetes without renal impairment / M. K. Kim, K. J. Yun, H. J. Chun [et al.] // Diabetes Metab. – 2014. – Vol. 40, № 6. – P. 459–465. – doi: 10.1016/j.diabet.2014.08.002

94. Combined association of creatinine, albuminuria, and cystatin C with all-cause mortality and cardiovascular and kidney outcomes / S. Waheed, K. Matsushita, B. C. Astor [et al.] // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. – 2013. – Vol. 8, № 3. – P. 434–442. – doi: 10.2215/CJN.04960512

95. Combined NOX1/4 inhibition with GKT137831 in mice provides dosedependent reno- and atheroprotection even in established micro- and macrovascular disease / S. P. Gray, J. C. Jha, K. Kennedy [et al.] // Diabetologia. – 2017. – Vol. 60. – P. 927–937.

96. Comparison of changes in urinary and blood levels of biomarkers associated with proximal tubular injury in rat models / K. Kuwata, I. Nakamura, M. Ide [et al.] // J. Toxicol. Pathol. – 2015. – Vol. 28. – P. 151–164. – doi: 10.1293/tox.2014-0039

97. Crosstalk between endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the progression of diabetic nephropathy / P. Victor, D. Umapathy, L. George [et al.] // Cell. Stress Chaperones. – 2021. – Vol. 26, № 2. – P. 311–321.

98. Darenskaya, M. A. Oxidative stress: Pathogenetic role in the development of diabetes mellitus and its complications, therapeutic approaches to correction / M. A. Darenskaya, L. I. Kolesnikova, S. I. Kolesnikov // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2021. – Vol. 171, № 2. – P. 136–149.

99. De Fronzo, R. A. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus / R. A. De Fronzo // Med. Clin. North Am. – 2004. – Vol. 88, № 4. – P. 787–835. – doi: 10.1016/j.mcna.2004.04.013

100. Derosa, G. D'A. A. A clinical trial about a food supplement containing α-lipoic acid on oxidative stress markers in type 2 diabetic patients / G. D'A. A. Derosa, D. Romano, P. Maffioli // Int. J. Mol. Sci. – 2016. – Vol. 17, № 11. – P. 1802.

101. Diabetes development, progression, and regression of microalbuminuria in Japanese patients with type 2 diabetes under tight glycemic and blood pressure control. The Kashiwa Study / T. Yamada, M. Komatsu, I. Komiya [et al.] // Care. – 2005. – Vol. 28, № 11. – P. 2733–2738. – doi: 10.2337/diacare.28.11.2733

102. Diabetic nephropathy: An update on pathogenesis and drug development / A. L. B. Vasanth, V. R. Rao, S. H. Tan [et al.] // Diabetes Metab. Syndr. – 2019. – Vol. 13. – P. 754–762. – doi: 10.1016/j.dsx.2018.11.054

103. Diabetic nephropathy is associated with low-grade inflammation in type 1 diabetic patients / M. Saraheimo, A. M. Teppo, C. Forsblom [et al.] // Diabetologia. – 2003. – Vol. 46, № 10. – P. 1402–1407. – doi: 10.1007/s00125-003-1194-5

104. DNA damage, DNA susceptibility to oxidation and glutathione level in women with polycystic ovary syndrome / Y. Dincer, T. Akcay, T. Erdem [et al.] // Scand. J. Clin. Lab. Invest. – 2005. – Vol. 65. – P. 721–728.

105. Dröge, W. Free radicals in the physiological control of cell function / W. Dröge // Physiol. Rev. – 2002. – Vol. 82, № 1. – P. 47–95. – doi: 10.1152/physrev.00018.2001

106. Dysregulation of low-density lipoprotein receptor contributes to podocyte injuries in diabetic nephropathy / Y. Zhang, K. Ling Ma, J. Liu [et al.] // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2015. – Vol. 308, № 12. – P. E1140–E1148. – doi: 10.1152/ajpendo.00591.2014

107. Effect of α-lipoic acid on symptoms and quality of life in patients with painful diabetic neuropathy / E. Agathos, A. Tentolouris, I. Eleftheriadou [et al.] // J. Int. Med. Res. – 2018. – Vol. 46, № 5. – P. 1779–1790.

108. Effects of NADPH oxidase inhibitor on diabetic nephropathy in OLETF rats: The role of reducing oxidative stress in its protective property / S. M. Nam, M. Y. Lee, J. H. Koh [et al.] // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2009. – Vol. 83. – P. 176–182.

109. El-Attar, H. A. Human kidney injury molecule-1 (Kim-1) level as an early marker for diabetic nephropathy in Egyptian type 2 diabetic patients / H. A. El-Attar, G. I. Khalil, E. W. Gaber // J. Renal Med. – 2017. – Vol. 1, № 1. – P. 3.

110. Endogenous fructose production and fructokinase activation mediate renal injury in diabetic nephropathy / M. A. Lanaspa, T. Ishimoto, C. Cicerchi [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. – 2014. – Vol. 25, № 11. – P. 2526–2538. – doi: 10.1681/ASN.2013080901

111. Enhanced oxidative stress and damage in glycated erythrocytes / C. Turpin, A. Catan, A. Guerin-Dubourg [et al.] // PloS One. – 2020. – Vol. 15, № 7. – P. e0235335. – doi: 10.1371/journal.pone.0235335

112. Evaluation of renal biopsies in type 2 diabetic patients with kidney disease: A clinicopathological study of 216 cases / L. Zhuo, W. Ren, W. Li [et al.] // Int. Urol. Nephrol. – 2013. – Vol. 45, № 1. – P. 173–179. – doi: 10.1007/s11255- 012-0164-6

113. Evans, M. D. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids / M. D. Evans, M. S. Cooke // Bioessays. – 2004. – Vol. 26, № 5. – P. 533–542. – doi: 10.1002/bies.20027

114. Executive summary of the Japan Atherosclerosis Society (JAS) guidelines for the diagnosis and prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases in Japan – 2012 version / T. Teramoto, J. Sasaki, S. Ishibashi [et al.] // J. Atherosclerosis Thrombosis. – 2013. – P. 15792.

115. Factors associated with frequent remission of microalbuminuria in patients with type 2 diabetes / S. Araki, M. Haneda, T. Sugimoto [et al.] // Diabetes. – 2005. – Vol. 54. – P. 2983–2987.

116. Factors associated with oxidative stress in human populations / G. Block, M. Dietrich, E. P. Norkus [et al.] // Am. J. Epidemiol. – 2002. – № 156. – P. 274–285.

117. Factors associated with progression to macroalbuminuria in microalbuminuric type1 diabetic patients: the EURODIAB Prospective Complications Study / F. Giorgino, L. Laviola, P. Cavallo [et al.] // Diabetologia. – 2004. – Vol. 47. – P. 1020–1028.

118. Flemming, N. B. Mitochondrial dysfunction and signaling in diabetic kidney disease: Oxidative stress and beyond / N. B. Flemming, L. A. Gallo, J. M. Forbes // Semin. Nephrol. – 2018. – Vol. 38, № 2. – P. 101–110.

119. FloraS, J. S. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure / S. J. S. Flora // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2009. – Vol. 2, № 4. – P. 191–206.

120. Fukai, T. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases / T. Fukai, M. Ushio-Fukai // Antioxid. Redox Signal. – 2011. – Vol. 15. – P. 1583–1606.

121. Gabbay, R. A. The antilipolytic effect of insulin does not require adenylate cyclase or phosphodiesterase action / R. A. Gabbay, H. A. Lardy // FEBS Lett. – 1985. – Vol. 179, № 1. – P. 7–11. – doi: 10.1016/0014-5793(85)80179-4

122. Gao, L. Vascular NAD(P)H oxidase activation in diabetes: A doubleedged sword in redox signalling / L. Gao, G. E. Mann // Cardiovasc. Res. – 2009. – Vol. 82, № 1. – P. 9–20. – doi: 10.1093/cvr/cvp031

123. Gaschlera, M. M. Lipid peroxidation in cell death / M. M. Gaschlera, B. R. Stockwellb // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2017. – Vol. 482, № 3. – P. 419–425. – doi: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086

124. Giacco, F. Oxidative stress and diabetic complications / F. Giacco, M. Brownlee // Circ. Res. – 2010. – Vol. 107. – P. 1058–1070.

125. Global trends in diabetes complications: A review of current evidence / J. L. Harding, M. E. Pavkov, D. J. Magliano [et al.] // Diabetologia. – 2019. – Vol. 62, № 1. – P. 3–16.

126. Glomerular endothelial mitochondrial dysfunction is essential and characteristic of diabetic kidney disease susceptibility / H. Qi, G. Casalena, S. Shi [et al.] // Diabetes. – 2017. – Vol. 66. – P. 763–778. – doi: 10.2337/db16-0695

127. GLP-1: Molecular mechanisms and outcomes of a complex signaling system / N. K. Smith, T. A. Hackett, A. Galli, C. R. Flynn // Neurochem. Int. – 2019. – Vol. 128. – P. 94–105. – doi: 10.1016/j.neuint.2019.04.010

128. Glycosaminoglycans urinary excretion as a marker of the early stages of diabetic nephropathy and the disease progression / A. Poplawska-Kita, B. Mierzejewska-Iwanowska, M. Szelachowska [et al.] // Diabetes Metab. Res. Rev. – 2008. – Vol. 24, № 4. – P. 310–317.

129. Goh, S. Y. The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes / S. Y. Goh, M. E. Cooper // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2008. – Vol. 93, № 4. – P. 1143–1152.

130. Gomes, M. B. Alpha-lipoic acid as a pleiotropic compound with potential therapeutic use in diabetes and other chronic disease / M. B. Gomes, C. A. Negrato // Diabetol. Metab. Syndr. – 2014. – Vol. 6, № 1. – P. 80.

131. Guthrie, R. A. Pathophysiology of diabetes mellitus / R. A. Guthrie, D. W. Guthrie // Crit. Care Nurs. Q. – 2004. – Vol. 27, № 2. – P. 113–125. – doi: 10.1097/00002727-200404000-00003

132. Hirakawa, Y. Mechanisms of metabolic memory and renal hypoxia as a therapeutic target in diabetic kidney disease / Y. Hirakawa, T. Tanaka, M. Nangaku // J. Diabetes Invest. – 2017. – Vol. 8, № 3. – P. 261–271.

133. Hissin, P. J. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues / P. J. Hissin, R. Hilf // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 74, № 1. – P. 214–226. – doi: 10.1016/0003-2697(76)90326-2

134. Identification of urinary soluble E-cadherin as a novel biomarker for diabetic nephropathy / H. Jiang, G. Guan, R. Zhang [et al.] // Diabetes Metab. Res. Rev. – 2009. – Vol. 25 (3). – P. 232–241.

135. IDF Diabetes Atlas ; 10th ed. – 2021. – Режим доступа: https://diabetesatlas.org (дата обращения: 06.04.2022).

136. Ilonen, J. The heterogeneous pathogenesis of type 1 diabetes mellitus / J. Ilonen, J. Lempainen, R. Veijola // Nat. Rev. Endocrinol. – 2019. – Vol. 15, № 11. – P. 635–650. – doi: 10.1038/s41574-019-0254-y

137. Impaired tubular uptake explains albuminuria in early diabetic nephropathy / L. M. Russo, R. M. Sandoval, S. B. Campos Campos [et al.] // J. Am. Soc. Nephrol. – 2009. – Vol. 20, № 3. – P. 489–494. – doi: 10.1681/ASN.2008050503

138. Increased urinary excretion of podocyte markers in normoalbuminuric patients with diabetes / E. Lioudaki, K. G. Stylianou, I. Petrakis [et al.] // Nephron. – 2015. – Vol. 131. – P. 34–42. – doi: 10.1159/000438493

139. Intensity of oxidative stress in Mongoloid and Caucasian patients with type 1 diabetes mellitus / L. I. Kolesnikova, B. Y. Vlasov, S. I. Kolesnikov [et al.] // Bull. Exp. Biol. – 2016. – Vol. 161, № 6. – P. 767–769.

140. Investigation on the pharmacokinetics of alpha-lipoic acid in healthy volunteers / J. Teichert, J. Kern, H. J. Tritschler [et al.] // Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. – 1998. – Vol. 36, № 12. – P. 625–628.

141. Jende, J. M. E. Diabetic neuropathy differs between type 1 and type 2 diabetes: Insights from magnetic resonance neurography / J. M. E. Jende // Ann. Neurol. – 2018. – Vol. 83. – P. 588–598. – doi: 10.1002/ana.25182

142. Kilpatrick, E. The rise and fall of HbA1c as a risk marker for diabetes complications / E. Kilpatrick // Diabetologia. – 2012. – Vol. 55, № 8. – P. 2089–2091. – doi: 10.1007/s00125-012-2610-5

143. Lightfoot, Y. L. Oxidative stress and beta cell dysfunction / Y. L. Lightfoot, J. Chen, C. E. Mathews // Methods Mol. Biol. – 2012. – Vol. 900. – P. 347–362.

144. Lim, A. K. H. Inflammation in diabetic nephropathy / A. K. H. Lim, G. H. Tesch // Mediat. Inflamm. – 2012. – Vol. 2012. – P. 146154. – doi: 10.1155/2012/146154

145. Limaa, V. Relationship between the action of reactive oxygen and nitrogen species on bilayer membranes and antioxidants / V. Limaa, M. Morfima, A. Teixeiraa // Chem. Phys. Lipids. – 2004. – Vol. 132. – P. 197–208.

146. Long-term renal outcomes of patients with type 1 diabetes mellitus and microalbuminuria: An analysis of the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications cohort / N. H. White, R. P. Danis, I. H. de Boer [et al.] // Arch. Intern. Med. – 2011. – Vol. 171. – P. 412–420.

147. L-type fatty acid binding protein (L-FABP) and kidney disease / A. Kamijo-Ikemori, T. Sugaya, K. Kimura // Rinsho Byori. – 2014. – Vol. 62, № 2. – P. 163–170.

148. Maritim, A. C. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review / A. C. Maritim, R. A. Sanders, J. B. Watkins // J. Biochem. Mol. Toxicol. – 2003. – Vol. 17, № 1. – P. 24–38. – doi: 10.1002/jbt.10058

149. Messenger RNA levels of podocyte-associated proteins in subjects with different degrees of glucose tolerance with or without nephropathy / F. Do Nascimento, L. H. Canani, F. Gerchman [et al.] // BMC Nephrol. – 2013. – Vol. 14. – P. 214. – doi: 10.1186/1471-2369-14-214

150. MicroRNAs miR-23a-3p, miR-23b-3p, and miR-149-5p regulate the expression of proapoptotic BH3-only proteins DP5 and PUMA in human pancreatic β-cells / F. A. Grieco, G. Sebastiani, J. Juan-Mateu [et al.] // Diabetes. – 2017. – Vol. 66, № 1. – P. 100–112. – doi: 10.2337/db16-0592

151. Mirończuk-Chodakowska, I. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body / I. Mirończuk-Chodakowska, A. M. Witkowska, M. E. Zujko // Adv. Med. Sci. – 2018. – Vol. 63, № 1. – P. 68–78.

152. Mistry, K. N. Evaluation of oxidative stress biomarkers and inflammation in pathogenesis of diabetes and diabetic nephropathy / K. N. Mistry, B. K. Dabhi, B. B. Joshi // Indian J. Biochem. Biophys. (IJBB). – 2020. – Vol. 57, № 1. – P. 45–50.

153. Mitochondria: A novel therapeutic target in diabetic nephropathy / S. Yang, Y. Han, J. Liu [et al.] // Curr. Med. Chem. – 2017. – Vol. 24, № 29. – P. 3185–3202. – doi: 10.2174/0929867324666170509121003

154. Nazar, C. M. J. Diabetic nephropathy; principles of diagnosis and treatment of diabetic kidney disease / C. M. J. Nazar // J. Nephropharmacol. – 2014. – Vol. 3. – P. 15–20.

155. Nephrinuria associates with multiple renal traits in type 2 diabetes / D. P. K. Ng, B.-Ch. Tai, E. Tan [et al.] // Nephrol. Dial Transplant. – 2011. – Vol. 26, № 8. – P. 2508–2514. – doi: 10.1093/ndt/gfq738

156. Nephrinuria in diabetic nephropathy of type 1 diabetes / A. Pätäri, C. Forsblom, M. Havana [et al.] // Diabetes. – 2003. – Vol. 52, № 12. – P. 2969–2974. – doi: 10.2337/diabetes.52.12.2969

157. Nodular glomerular lesion: a later stage of diabetic nephropathy? / T. Zheng, D. Hong, S. Jia-qing [et al.] // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2007. – Vol. 78, № 2. – P. 189–195. – doi: 10.1016/j.diabres.2007.03.024

158. “Normoalbuminuric” diabetic nephropathy: Tubular damage and NGAL / A. Lacquaniti, V. Donato, B. Pintaudi [et al.] // Acta Diabetologica. – 2013. – Vol. 50, № 6. – P. 935–942.

159. Novel insights into effects of cortisol and glucagon on nocturnal glucose production in type 2 diabetes / A. Basu, Y. Yadav, R. E. Carter, R. Basu // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2020. – Vol. 105, № 7. – P. e2378–e2388. – doi: 10.1210/clinem/dgaa241

160. Obesity: A chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation / G. A. Bray, K. K. Kim, J. P. H. Wilding,

World Obesity Federation // Obes. Rev. – 2017. – Vol. 18, № 7. – P. 715–723. – doi: 10.1111/obr.12551

161. On type 1 diabetes mellitus pathogenesis / S. A. Paschou, N. Papadopoulou-Marketou, G. P. Chrousos, C. Kanaka Gantenbein // Endocr. Connect. – 2018. – Vol. 7, № 1. –P. R38–R46. – doi: 10.1530/EC-17-0347

162. Oxidative damage to DNA and antioxidant status in aging and age-related diseases / R. Olinski, A. Siomek, R. Rozalski [et al.] // Acta Biochim. Pol. – 2007. – Vol. 54, № 1. – P. 11–26.

163. Oxidative stress and inflammation in renal and cardiovascular complications of diabetes / A. Charlton, J. Garzarella, K. A. Jandeleit-Dahm [et al.] // Biology. – 2021. – Vol. 10, № 1. – P. 18.

164. Oxidative stress in diabetic nephropathy with early chronic kidney disease / A. G. Miranda-Díaz, L. Pazarín-Villaseñor, F. G. Yanowsky-Escatell, J. Andrade Sierra // J. Diabetes Res. – 2016. – Vol. 2016. – P. 7047238. – doi: 10.1155/2016/7047238

165. Oxidative stress in end-stage renal disease: An emerging threat to patient outcome / F. Locatelli, B. Canaud, K.-U. Eckardt [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. – 2003. – Vol. 18, № 7. – P. 1272–1280.

166. Oxidative stress in type 1 diabetes mellitus: ethnic aspects / L. I. Kolesnikova, M. A. Darenskaya, L. A. Grebenkina [et al.] // Free Radicals, Antioxidants and Diseases. – Rijeka : Intech Open, 2018. – P. 65–72.

167. Oxidative stress markers in chronic kidney disease with emphasis on diabetic nephropathy / N. Vodošek Hojs, S. Bevc, R. Ekart [et al.] // Antioxidants. – 2020. – Vol. 9, № 10. – P. 925. – doi: 10.3390/antiox9100925

168. Oyewole, A. Mitochondria-targeted antioxidants / A. Oyewole, M. Birch-Machin // FASEB J. – 2015. – Vol. 29, № 12. – P. 4766–4771. – doi: 10.1096/fj.15-275404

169. Ozougwu, J. C. The role of reactive oxygen species and antioxidants in oxidative stress / J. C. Ozougwu // Int. J. Res. – 2016. – Vol. 3, № 6. – P. 1–8.

170. Papadopoulou-Marketou, N. Diabetic nephropathy in type 1 diabetes: A review of early natural history, pathogenesis, and diagnosis / N. Papadopoulou-Marketou, G. P. Chrousos, C. Kanaka-Gantenbein // Diabetes Metab. Res. Rev. – 2017. – Vol. 33, № 2. – P. e2841. – doi: 10.1002/dmrr.2841

171. Pathophysiology of diabetic nephropathy: Involvement of multi-faceted signaling mechanism / P. Balakumar, M. K. Arora, J. Reddy, M. B. Anand-Srivastava // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2009. – Vol. 54. – P. 129–138.

172. Paul, S. Molecular complexities underlying the vascular complications of diabetes mellitus – A comprehensive review / S. Paul, A. Ali, R. Katare // J. Diabetes Complic. – 2020. – Vol. 34, № 8. – P. 107613. – doi: 10.1016/j.jdiacomp.2020.107613

173. Pervaiz, S. Oxidative stress regulation of stem and progenitor cells / S. Pervaiz, R. Taneja, S. Ghaffari // Antioxid. Redox Signal. – 2009. – Vol. 11. – P. 2777–2789.

174. Petermann, A. Podocyte damage resulting in podocyturia: A potential diagnostic marker to assess glomerular disease activity / A. Petermann, J. Floege // Nephron. Clin. Pract. – 2007. – Vol. 106, № 2. – P. c61–c66.

175. Plasma concentrations of 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine and risk of kidney disease and death in individuals with type 1 diabetes / M. Sanchez, R. Roussel, S. Hadjadj [et al.] // Diabetologia. – 2018. – Vol. 61. – P. 977–984. – doi: 10.1007/s00125-017-4510-1

176. Podocyturia parallels proximal tubule dysfunction in type 2 diabetes mellitus patients independently of albuminuria and renal function decline: A cross- sectional study / L. Petrica, M. Vlad, A. Vlad [et al.] // J. Diabetes Complic. – 2017. – Vol. 31, № 9. – P. 1444–1450. – doi: 10.1016/j.jdiacomp.2017.01.007

177. Porasuphatana, S. Glycemic and oxidative status of patients with type 2 diabetes mellitus following oral administration of alpha lipoic acid: A randomized double-blinded placebo controlled study / S. Porasuphatana // Asia Pacif. J. Clin. Nutr. – 2012. – Vol. 21, № 1. – P. 12–21.

178. Prevention of mitochondrial injury by Mn-SOD reveals a primary mechanism for alkaline-induced cell death / H. Majima, T. D. Oberley, K. Furukawa [et al.] // J. Biol. Chem. – 1998. – Vol. 273. – P. 8217–8224.

179. Primavera, M. Prediction and prevention of type 1 diabetes / M. Primavera, C. Giannini, F. Chiarelli // Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2020. – Vol. 11. – P. 248. – doi: 10.3389/fendo.2020.00248

180. Rabbani, N. The critical role of methylglyoxal and glyoxalase 1 in diabetic nephropathy / N. Rabbani, P. J. Thornalley // Diabetes. – 2014. – Vol. 63. – P. 50–52.

181. Recent novel approaches to limit oxidative stress and inflammation in diabetic complications / R. J. Pickering, C. J. Rosado, A. Sharma [et al.] // Clin. Transl. Immunol. – 2018. – Vol. 7, № 4. – P. e1016.

182. Rediscovering beta-2 microglobulin as a biomarker across the spectrum of kidney diseases / C. P. Argyropoulos, S. S. Chen, Y.-H. Ng [et al.] // Front. Med. (Lausanne). – 2017. – Vol. 4. – P. 73. – doi: 10.3389/fmed.2017.00073

183. Relation of serial changes in childhood bodymass index to impaired glucose tolerance in young adulthood / S. K. Bhargava, H. S. Sachdev, C. H. Fall [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2004. – Vol. 350, № 9. – P. 865–875.

184. Remission to 72 normoalbuminuria during multifactorial treatment preserves kidney function in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria / P. Gaede, L. Tarnow, P. Vedel [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. – 2004. – Vol. 19. – P. 2784–2788.

185. Renal biopsy in type 2 diabetes: Timing of complications and evaluating of safety in Chinese patients / P.-P. Zhang, Y.-C. Ge, S.-J. Li [et al.] // Nephrology. – 2011. – Vol. 16, № 1. – P. 100–105. – doi: 10.1111/j.1440-1797.2010.01369.x

186. Reutens, A. T. Epidemiology of diabetic kidney disease / A. T. Reutens // Med. Clin. North Am. – 2013. – Vol. 97, № 1. – P. 1–18. – doi: 10.1016/j.mcna.2012.10.001

187. Role of reactive oxygen species in the pathogenesis of diabetic nephropathy / H. Ha, In.-A. Hwang, J. H. Park, H. B. Lee // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2008. – Vol. 82, Suppl. 1. – P. S42–S45. – doi: 10.1016/j.diabres.2008.09.017

188. Roles of kininogen-1, basement membrane specific heparan sulfate proteoglycan core protein, and roundabout homolog 4 as potential urinary protein biomarkers in diabetic nephropathy / P. N. Nakorn, S. Pannengpetch, P. Isarankura-Na-Ayudhya [et al.] // EXCLI J. – 2020. – Vol. 19. – P. 872–891. – doi: 10.17179/excli2020-1396

189. Sagoo, M. K. Diabetic nephropathy: Is there a role for oxidative stress? / M. K. Sagoo, L. Gnudi // Free Radic. Biol. Med. – 2018. – Vol. 116. – P. 50–63. – doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.12.040

190. Saxena, S. Critical role of mitochondrial dysfunction and impaired mitophagy in diabetic nephropathy / S. Saxena, A. Mathur, P. Kakkar // J. Cell. Physiol. – 2019. – Vol. 234, № 11. – P. 19223–19236. – doi: 10.1002/jcp.28712

191. Scott, A. R. Management of hyperosmolar hyperglycaemic state in adults with diabetes / A. R. Scott, Joint British Diabetes Societies (JBDS) for Inpatient Care; JBDS Hyperosmolar Hyperglycaemic Guidelines Group // Diabet. Med. – 2015. – Vol. 32, № 6. – P. 714–724. – doi: 10.1111/dme.12757

192. Shibamoto, T. Analytical methods for trace levels of reactive carbonyl compounds formed in lipid peroxidation systems. Review / T. Shibamoto // J. Pharmaceut. Biomed. Anal. – 2006. – Vol. 41, № 1. – P. 12–25.

193. Sies, H. Oxidative eustress and oxidative distress: Introductory remarks / H. Sies // Oxidative Stress. – Academic Press, 2020.

194. Sies, H. Oxidative stress: Concept and some practical aspects / H. Sies // Antioxidants. – 2020. – Vol. 9, № 9. – P. 852.

195. Sies, H. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents / H. Sies, D. P. Jones // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2020. – Vol. 21, № 7. – P. 363–383.

196. Some parameters of 74 carbonyl and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus and macroangiopathy of the lower extremities / L. I. Kolesnikova, N. A. Shemyakina, E. V. Namokonov [et al.] // Diabetes Technol. Therapeutics. – 2019. – Vol. 21, Suppl. 1. – P. 46.

197. Spiteller, G. Peroxyl radicals are essential reagents in the oxidationsteps of the Maillard reaction leading to generation of advanced glycation products / G. Spiteller // Ann. N Y Acad. Sci. – 2008. – Vol. 1126, № 9. – P. 128–133. – doi: 10.1196/annals.1433.031

198. Stanton, R. C. Diabetic nephropathy and oxidative stress / R. C. Stanton // US Endocrinol. – 2006. – № 1. – P. 2–5. – doi: 10.17925/USE.2006.00.1.21

199. Targeting mitochondria and reactive oxygen species-driven pathogenesis in diabetic nephropathy / R. Lindblom, G. Higgins, M. Coughlan, de Haan J. B. // Rev. Diabet. Stud. – 2015. – Vol. 12, № 1-2. – P. 134–156. – doi: 10.1900/RDS.2015.12.134

200. Tepel, M. Oxidative stress: does it play a role in the genesis of essential hypertension and hypertension of uremia / M. Tepel // Nephrol. Dial. Transplant. – 2003. – Vol. 18, № 8. – P. 1439–1442.

201. Thallas-Bonke, V. Tandem inhibition of PKC in diabetic nephropathy: It takes two to tango? / V. Thallas-Bonke, M. Cooper // Diabetes. – 2013. – Vol. 62, № 4. – P. 1010–1011.

202. The effect of 600 mg alpha-lipoic acid supplementation on oxidative stress, inflammation, and RAGE in older adults with type 2 diabetes mellitus / V. M. Mendoza-Núñez, B. I. García-Martínez, J. Rosado-Pérez [et al.] // Oxidat. Med. Cell. Long. – 2019. – Vol. 2019. – P. 3276958. – doi: 10.1155/2019/3276958

203. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus / Diabetes Control and Complications Trial Research Group, D. M. Nathan, S. Genuth [et al.] // N. Engl. J. Med. – 1993. – Vol. 329, № 14. – P. 977–986. – doi: 10.1056/NEJM199309303291401

204. The effect of renal hyperfiltration on urinary inflammatory cytokines/chemokines in patients with uncomplicated type 1 diabetes mellitus / R. Har, J. W. Scholey, D. Daneman [et al.] // Diabetologia. – 2013. – Vol. 56, № 5. – P. 1166–1173.

205. The evaluation of peripheral neuropathy in youth with type 1 diabetes / J. T. Moser, D. R. Langdon, R. S. Finkel [et al.] // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2013. – Vol. 100. – P. e3–e6. – doi: 10.1016/j.diabres.2013.01.015

206. The initiation of the free radical peroxidation of low-density lipoproteins by glucose and its metabolite methylglyoxal: A common molecular mechanism of vascular wall injure in atherosclerosis and diabetes / V. Z. Lankin, G. G. Konovalova, A. K. Tikhaze [et al.] // Mol. Cell Biochem. – 2014. – Vol. 395, № 1/2. – P. 241–252. – doi: 10.1007/s11010-014-2131-2

207. The oxidative stress status in diabetes mellitus and diabetic nephropathy / H. Pan, L. Zhang, M. Guo [et al.] // Acta Diabetol. – 2010. – Vol. 47, Suppl. 1. – Vol. 71–76. – doi: 10.1007/s00592-009-0128-1

208. The plasma pharmacokinetics of R-(+)-lipoic acid administered as sodium R-(+)-lipoate to healthy human subjects / D. A. Carlson, A. R. Smith, S. J. Fischer [et al.] // Alternative Med. Rev. – 2007. – Vol. 12, № 4. – P. 343–351.

209. The research and development on the antioxidants in prevention of diabetic complications / M. Rahimi-Madiseh, A. Malekpour-Tehrani, M. Bahmani, M. Rafieian-Kopaei // Asian Pac. J. Trop. Med. – 2016. – Vol. 9, № 9. – P. 825–831.

210. The role of oxidative stress, mitochondrial function, and autophagy in diabetic polyneuropathy / S. Sifuentes-Franco, F. P. Pacheco-Moisés, A. D. Rodríguez-Carrizalez [et al.] // J. Diabetes Res. – 2017. – Vol. 2017. – P. 1673081. – doi: 10.1155/2017/1673081

211. Todd, J. A. Etiology of type 1 diabetes / J. A. Todd // Immunity. – 2010. – Vol. 32, № 4. – P. 457–467. – doi: 10.1016/j.immuni.2010.04.001

212. Transcriptional regulation of transforming growth factor β1 by glucose: Investigation into the role of the hexosamine biosynthesis pathway / M. C. Daniels, D. A. McClain, E. D. Crook // Am. J. Med. Sci. – 2020. – Vol. 359, № 2. – P. 79–83.

213. Ullah, A. Diabetes mellitus and oxidative stress – A concise: review / A. Ullah, A. Khan, I. Khan // Saudi Pharmaceutical J. – 2016. – Vol. 24. – P. 547–553.

214. Umanath, K. Update on diabetic nephropathy: Core curriculum 2018 / K. Umanath, J. B. Lewis // Am. J. Kidney Dis. – 2018. – Vol. 71, № 6. – P. 884–895. – doi: 10.1053/j.ajkd.2017.10.026

215. Urinary nephrin is earlier, more sensitive and specific marker of diabetic nephropathy than microalbuminuria / I. Kostovska, K. Tosheska-Trajkovska, S. Topuzovska [et al.] // J. Med. Biochem. – 2020. – Vol. 39, № 1. – P. 83–90. – doi: 10.2478/jomb-2019-0026

216. Urinary podocalyxin is an early marker for podocyte injury in patients with diabetes: Establishment of a highly sensitive ELISA to detect urinary podocalyxin / M. Hara, K. Yamagata, Y. Tomino [et al.] // Diabetologia. – 2012. – Vol. 55, № 11. – P. 2913–2919. – doi: 10.1007/s00125-012-2661-7

217. Urinary proteomics for early diagnosis in diabetic nephropathy / P. Zürbig, G. Jerums, P. Hovind [et al.] // Diabetes. – 2012. – Vol. 61. – P. 3304–3313.

218. Urinary β2-microglobulin is a good indicator of proximal tubule injury: A correlative study with renal biopsies / X. Zeng, D. Hossain, D. G. Bostwick [et al.] // J. Biomarkers. – 2014. – Vol. 2014. – Article ID: 492838. – doi: 10.1155/2014/492838

219. Urine markers of podocyte dysfunction: A review of podocalyxin and nephrin in selected glomerular diseases / G. Akankwasa, L. Jianhua, C. Guixue [et al.] // Biomarkers Med. – 2018. – Vol. 12, № 8. – P. 927–935. – doi: 10.2217/bmm-2018-0152

220. Variability in total cholesterol is associated with the risk of end-stage renal disease: a nationwide population-based study / M. K. Kim, K. Han, E. S. Koh [et al.] // Arteriosc. Thromb. Vasc. Biol. – 2017. – Vol. 37, № 10. – P. 1963–1970. – doi: 10.1161/ATVBAHA.117.309803

221. Wang, J. Oxidative stress in pancreatic beta cell regeneration / J. Wang, H. Wang // Oxid. Med. Cell. Longev. – 2017. – Vol. 2017. – P. 1930261. – doi: 10.1155/2017/1930261

222. Wang, R. Association between renal podocalyxin expression and renal dysfunction in patients with diabetic nephropathy: A single-center, retrospective case-

control study / R. Wang, C. Yao, F. Liu // Biomed. Res. Int. – 2020. – Vol. 2020. – P. 7350781. – doi: 10.1155/2020/7350781

223. Wang, X. Pathological and clinical characteristics of diabetic nephropathy and diabetic nephropathy combined with non-diabetic nephropathy / X. Wang // J. Clin. Res. – 2015. – Vol. 2015. – P. 151–152.

224. Widening of foot processes in normoalbuminuric adolescents with type 1 diabetes / T. B. Torbjörnsdotter, N. E. Perrin, G. A. Jaremko [et al.] // Pediatr. Nephrol. – 2005. – Vol. 20, № 6. – P. 750–758. – doi: 10.1007/s00467-005-1829-5

225. Ziegler, R. Diabetes in childhood and adolescence / R. Ziegler, A. Neu // Dtsch Arztebl. Int. – 2018. – Vol. 115, № 9. – P. 146–156. – doi: 10.3238/arztebl.2018.0146

226. Zou, W. Pathology of renal biopsy / W. Zou, H. Wang. – Peking University Medical Press, 2009.