

УДК: 616.379-008.64:616.61-071

**ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ МАРКЕРОВ БЕЛКОВ МОЧИ ДЛЯ
ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ДИАБЕТИЧЕСКОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ ПОЧЕК**

<https://doi.org/10.5281/zenodo.14393520>

Мансуров М.Р., Омонов А.А., Мухамедова Н.Х., Алимов С.М.

**PROTEOM ASOSIDA ANIQLANGAN DIABETIK BUYRAK KASALLIGI
BIOMARKERLARINI VAHOLASH**

Mansurov M. R., Omonov A.S., Muxamedova N.X., Alimov S.M.

**EVALUATION OF BIOMARKERS OF DIABETIC KIDNEY DISEASE
IDENTIFIED ON THE BASIS OF PROTEOMICS**

Mansurov M.R., Omonov A.S., Mukhamedova N.Kh. Alimov S.M.

Ташкентская медицинская академия

Ключевые слова

Цинк-альфа-2-гликопротеин в сыворотке, (ЦАГ) диабетической нефропатии, альбумин, ЦАГ в моче, мг/г https://journals-sagepub.com.translate.googleusercontent.com/doi/full/10.1177/0300060515601699?x_tr_sl=en&x_tr_tl=ru&x_tr_hl=ru&x_tr_pto=sc-table-fn3-0300060515601699 креатинин, СКФ.

Актуальность Диабетическая болезнь почек (ДБП) является распространенным микрососудистым осложнением, от которого страдают 20–40% людей с диагнозом диабет 2 типа, что приводит к высоким показателям заболеваемости и смертности. Диагноз ДБП ставится на основании показателя стойкой протеинурии, соотношения альбумин-креатинин более 30 мг/г креатинина, снижения расчетной скорости клубочковой фильтрации (рСКФ) и прогрессирования ухудшения функции почек. Это биомаркеры повреждения функционального состояния почек, которые позволяют прогнозировать формирование болезни почек на ранних этапах, а также осуществлять мониторинг течения заболеваний остается актуальной проблемой.

Патогенез диабетической болезни почек включает три основных компонента: гемодинамическую, метаболическую и воспалительную оси [1,5]. Стойкая альбуминурия, сопровождающаяся прогрессирующим снижением скорости клубочковой фильтрации (СКФ), характеризует ДБП клинически. Диагностический маркер для выявления ДН на ранней стадии важен, поскольку раннее вмешательство может замедлить потерю функции почек и уменьшить неблагоприятные исходы. ДН диагностируется на основании обнаружения стойкой протеинурии, соотношения альбумина к креатинину более 30 мг/г креатинина, снижения расчетной скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и прогрессирующего ухудшения функции почек. Появление небольшого количества белка альбумина в моче, называемое микроальбуминурией, было принято в качестве самого раннего маркера развития ДН. Учитывая, что ДН является распространенной причиной терминальной стадии почечной недостаточности, крайне важно определить надежные биомаркеры, которые могут служить руководством для диагностики и лечения этого состояния. Однако сообщалось, что большая часть почечной недостаточности возникает еще до появления микроальбуминурии [10,12]. С альбуминурией связано несколько сопутствующих проблем, таких как физические упражнения, инфекции мочевыводящих путей, острые заболевания и сердечная недостаточность. Кроме того, сообщалось, что она возникает в моче у лиц, не страдающих диабетом, что указывает на неспецифичность альбуминурии для точного прогнозирования диабетического заболевания почек [7].

Таким образом, существует настоятельная необходимость в создании новых не инвазивных биомаркеров, которые могут оценить риск будущего возникновения ДН или обнаружить это заболевание на самых ранних стадиях. Учитывая эти недостатки, для оптимального клинического ведения пациентов с диабетом необходимы дополнительные биомаркеры мочи, которые предсказывают ДН на очень ранней стадии, даже до появления микроальбуминурии [1,3,4]. Интересно, что в хронических случаях диабетической нефропатии функция почек лучше коррелирует со степенью тубулоинтерстициального повреждения, чем с гломерулярными поражениями, что предполагает, что исследователям следует искать канальцевые биомаркеры для выявления пациентов с диабетической нефропатией.

Растет интерес к выявлению альтернативных биомаркеров, которые могли бы обеспечить более мощные и быстрые средства для выявления прогрессирования диабетической нефропатии. В этой связи различными исследователями были предложены биомаркеры, отражающие канальцевое повреждение.

Цинк-альфа-2-гликопротеин (ЦАГ) – это гликопротеин массой 41–43 кДа, относящийся к семейству белков основных комплексов гистосовместимости класса. ЦАГ присутствует в различных эпителиях и секретируется во многих жидкостях организма. Известно, что ЦАГ стимулирует липолиз посредством стимуляции аденилатциклазы в процессе, включающем от гуанозинтрифосфата, посредством связывания через β 3-адренорецепторы.

Протеомные анализы показывают, что уровень ЦАГ в мочевом пузыре увеличивается именно у пациентов с диабетом и может использоваться в качестве биомаркера для специфической и точного клинического анализа диабетической нефропатии [2,8,9,10]. Иммуногистохимический анализ показал, что ЦАГ экспрессируется в основном в канальцах почек человека [13,14].

В настоящее время выдвинута гипотеза о том, что концентрация ЦАГ в моче может быть связана с начальными стадиями прогрессирования диабетической нефропатии, до того, как микро альбуминурия станет очевидной. Это могут быть обнаружены у пациентов с диабетом 2 типа до начала значительной альбуминурии.

Интерес к использованию биомаркеров для ранней ДН обусловлен наблюдением, что пациенты с диабетом 2 типа проходят через период преддиабета и могут испытывать почечную недостаточность на момент постановки диагноза. Хотя микро альбуминурия считается самым ранним маркером ДН в клинической практике, 29,1–61,6 % лиц с диабетом 2 типа могут иметь почечную недостаточность еще до появления микроальбуминурии, золотого стандарта ранней диагностики необходимо внедрять различные стратегии для выявления ранней ДН у пациентов с диабетом 2 типа с целью замедления ее прогрессирования и улучшения результатов. Повышенные уровни мочевых биомаркеров могут быть обнаружены у пациентов с диабетом 2 типа до начала значительной альбуминурии и могут использоваться в качестве раннего маркера повреждения почек при диабетической нефропатии, это будет играть важную роль для эффективного управления и подходов к лечению при

диабетической помощи. Причиной тому также является, то что корреляция между альбуминурией и рСКФ слабая, а альбумин мочи не обладает ни чувствительностью, ни специфичностью для выявления ранних стадий диабетической нефропатии.

В этом настоящем исследовании, как указано в таблице 1, концентрация ЦАГ в моче была значительно повышена у пациентов с ДН по сравнению со здоровыми контрольными субъектами. Эти новые результаты свидетельствуют о том, что повышенные концентрации ZAG в моче могут отражать повреждение почек раньше, чем микро альбуминурия у пациентов с диабетической нефропатией, и что это может быть потенциальным новым биомаркером этого осложнения диабета.

Цель исследования

оценка диагностического значения протеомных маркеров мочи в ранней диагностике диабетической нефропатии и оценить значимость биомаркеров в прогнозировании данного заболевания.

Материал и методы

Под наблюдением были 58 пациентов с сахарным диабетом 2 типа, посещавшие отделение нефрологии ТМА. В исследование приняли участие 18 здоровых контрольных средний возраст ($51,6 \pm 8,6$ лет). Исследование проводили в многопрофильной клинике ТМА совместно с врачами-эндокринологами, урологами и нефрологами. Иммуноферментные, клинические и биохимические исследования проводили с использованием автоматических анализаторов фирмы. Mindray и диагностикума «Human, БиоХимМак» и высокочувствительные масс-спектрометрические методы.

Как видно из представленных результатов исследования (табл. 1), содержание ЦАГ в моче у обследованных достоверно возрастает до $53,64 \pm 5,57 * \text{ мг//л}$. У пациенток группы сравнения изучаемый показатель в среднем составляет $28.17 \pm 2.184 \text{ мг /л}$, что в 2 раза выше исходного уровня.

Таблица 1

Содержание протеомных маркеров мочи у больных диабетической нефропатией, $M \pm m$

Показатели	Здоровые Лица	Больные с ДН
------------	---------------	--------------

	n=18	n=58
Азот мочевины крови, ммоль/л	5,48 ± 0,45	7,31 ± 0,64
Креатинин, мкмоль/л	70,13 ± 6,54	86,54 ± 7,47
Индекс массы тела, кг/м ²	24,86 ± 2,63	27,83 ± 2,47
С- реактивный белок, мг/л	1,18 ± 0,17	2,14 ± 0,19
СКФ, мл/мин на 1,73 м ²	108,24 ± 9,67	104,63 ± 9,58
Цинк-альфа-2-гликопротеин в сыворотке, (ЦАГ) мг/л	22,13 ± 2,46	34,67 ± 2,98*
ЦАГ в моче, мг/г https://journals-sagepub-com.translate.google.com/doi/full/10.1177/0300060515601699?x_tr_sl=en&x_tr_tl=ru&x_tr_hl=ru&x_tr_pto=sc-table-fn3-0300060515601699 креатинин	28,17 ± 2,18	53,64 ± 5,57 *

Примечание: *- достоверность различий $P < 0,05$ при сравнение показателей группы здоровых лиц.

Изменения в концентрациях ЦАГ в моче, наблюдаемые в настоящем исследовании, могут указывать на повреждение канальцев, которое присутствует на ранних стадиях диабетической нефропатии, опережая те, которые приводят к микроальбуминурии.

Следовательно, данный белок потенциально могут быть использованы в качестве биомаркеров для специфического и точного клинического анализа диабетической нефропатии.

На следующей этапе исследований, пациенты с ДН были стратифицированы на группу с нормальной альбуминурией (соотношения альбумина к креатинину в моче < 30 мг/г, $n = 18$), группу с микроальбуминурией (30 мг/г $<$ соотношения альбумина к креатинину в моче < 300 мг/г, $n = 16$) и группу с макро альбуминурией. (соотношения альбумина к креатинину в моче ≥ 300 мг/г, $n = 14$).

В наших исследованиях степень снижения ЦАГ в моче значительно возросла у пациентов с ДН по сравнению со контролируруемыми субъектами. Концентрация ЦАГ в моче проявлялась раньше, чем альбуминурия, о чем свидетельствуют повышенные состояния ЦАГ в моче у пациентов с нормальной альбуминурией, но входящие в группу с более высоким рСКФ.

Эти результаты показывают, что повышенные структуры ЦАГ в моче могут отражать повреждение почек раньше, чем микро альбуминурия у пациентов с диабетической нефропатией, и что это может быть потенциальным новым биомаркером для измерения этого диабета.

Таким образом, достоверных различий в средней концентрации мочи ЦАГ между пациентами в группе с нормальной альбуминурией и здоровыми контрольными субъектами было незначительно. Среднее содержания мочи ЦАГ у пациентов в группах с микроальбуминурией (67,48±5,87мг/г) и макро альбуминурией (81,24 ± 7,98 мг/г) были почти в два-три раза выше по сравнению с такими у здоровых контрольных субъектов ($P < 0,01$).

Таблица 2

Концентрация цинк-альфа-2-гликопротеина в моче (ЦАГ) у пациентов ДН относительно уровня альбумина в моче

Показатель	Здоровые лица $n=20$	Нормоальбуминурия (соотношения альбумина к креатинину в моче < 30 мг/г) $n = 18$	Микроальбуминурия (соотношения альбумина к креатинину в моче < 300 мг/г) $n = 16$	Макроальбуминурия (соотношения альбумина к креатинину в моче ≥ 300 мг/г) $n = 14$
ЦАГ (мг/г)	28,17±2,18	36,23 + 2,56	67,48 ± 5,87*	81,24 ± 7,98*

Примечание: *- достоверность различий $P < 0,05$ при сравнение показателей группы здоровых лиц.

Следовательно, протеомное исследование предположило, что повышение ЦАГ в моче могут быть обусловлены патогенезом не альбуминурической диабетической нефропатии. Поскольку ЦАГ в основном экспрессируется в проксимальных извитых и прямых каналах.

Изменения в концентрации ЦАГ в моче, наблюдаемые наших исследованиях, могут сопровождаться с повреждением не только клубочков, но и канальцев, возникающих на ранних стадиях диабетической нефропатии, опережающей те, которые приводят к микроальбуминурии.

Полученные нами данные протеомного анализа дают возможность выявить потенциальные биомаркеры диабетической нефропатии в моче, что является обуславливающим шагом вперед в продвижении точной диагностики и нашего определения заболевания.

Альтернативных биомаркеров, отличных от мочевого альбумина и креатинина, при выявлении ранней стадии ДН, включая биомаркеры на основе белков, присутствующие в моче.

Многочисленные биомаркеры, обнаруженные к настоящему времени, продемонстрировали сильный диагностический потенциал, включая протеомные биомаркеры на основе мочи, которые продемонстрировали превосходный потенциал. В клинике теперь доступно все больше и больше диагностических методов, позволяющих независимо и точно прогнозировать микро альбуминурию, связанную с ДН.

Эти анализы протеомных биомаркеров часто проще и менее инвазивны, чем стандартные диагностические методы, что потенциально снижает необходимость в процедурах биопсии почек как основного средства диагностики ДН. Эти стратегии также предлагают теоретическую основу для более надежного лечения этого заболевания и предотвращения его прогрессирования.

Однако, несмотря на такие обещания, панели биомаркеров на основе протеомики не применяются в большинстве лабораторий клинической химии на постоянной основе. Дальнейшие исследования, сосредоточенные на этих протеомных биомаркерах, будут направлять раннюю и не инвазивную диагностику ДН, позволят осуществлять более надежный мониторинг состояния пациентов и поддерживать лучшие результаты лечения пациентов на многих уровнях.

Мы надеемся, что дальнейшие исследования, сосредоточенные на роли целевой протеомики при диабетической болезни почек, приведут к новым прорывам в этой области с несомненной клинической ценностью.

Заключение:

Настоящее исследование с несколькими десятками пациентов раскрывает потенциал отдельных панелей биомаркеров в клинической диагностике диабетической нефропатии. Представленная здесь база данных человеческого мочевого пептидома при ДН является важным шагом к тому, чтобы протеомика стала диагностическим инструментом в клинических условиях.

Важно отметить, что протеомных биомаркеров часто проще и менее инвазивны, чем стандартные диагностические методы, что потенциально снижает необходимость в процедурах биопсии почек как основного средства диагностики ДН, позволят осуществлять более надежный мониторинг

состояния пациентов и поддерживать лучшие результаты лечения пациентов на многих уровнях.

Выводы: определение этих маркеров позволит, как можно раньше выявить нарушения функционального состояния почек и определить группы больных, особенно нуждающихся в эффективной терапии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Araki S , Haneda M, Koya D, Hidaka H, Sugimoto T, Isono M, Isshiki K, Chin-Kanasaki M, Uzu T, Kashiwagi A. Снижение микроальбуминурии как интегрированный показатель снижения почечного и сердечно-сосудистого риска у пациентов с диабетом 2 типа. // Диабет . 2015. -Vol. 19. – P.1727-1730.

2. Варгезе С.А., Пауэлл Т.Б., Будисавлевич М.Н. Bolignano D , Donato V, Coppolino G, Campo S, Buemi A, Lacquaniti A, Buemi M. Цинк-альфа-2-гликопротеин (ЦАГ), как маркер повреждения почек. // Am J Kidney Dis . 2014 №5. С.-595-605.

3. Gross JL , de Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Диабетическая нефропатия: диагностика, профилактика и лечение. // Diabetes Care . 2015 – №2. – С.164-176.

4. Mogensen CE . Микроальбуминурия предсказывает клиническую протеинурию и раннюю смертность при диабете зрелого возраста. // N Engl J Med . 2014 – №1. – С.3564-360.

5. Mukhamedova N.Kh., Shukurova U.P. The Role of Anti-Inflammatory Cytokines in Patients With Kidney Nephrosclerosis in Chronic Pyelonephritis // Middle European Scientific Bulletin: Volume: 31 / Dec. -2022. – P.1-3. (ISSN 2694-9970). 23. Scientific Journal Impact Factor.

6. Мухамедова Н.Х., Шукурова У.П., Собирова М.Р. Оценка прогностических тестов диагностики клубочковых и канальцевых нарушений при хроническом пиелонефрите // Вестник ТМА. – Ташкент, 2021. – №6. – С.119-122. (14.00.00; №13). (ISSN 2181-7812).

7. Ninomiya T , Perkovic V, de Galan BE, Zoungas S, Pillai A, Jardine M, Patel A, Cass A, Neal B, Poulter N. Альбуминурия и функция почек независимо друг от друга предсказывают сердечно-сосудистые и почечные исходы при диабете. // J Am Soc Nephrol . 2014 -Vol. 5. – P.1813-1821.

8. O'pkaning o'tkir resperator kasalliklarida gemostaz tizimini buzilishi. ./ Ergashov A.T., Muxamedova N.H., Omonov A.A., Tojimurodov X.A.// Eurasian

journal of medical and natural sciences, Volume 3 Issue 11, November 2023.123-129 bet. <https://www.doi.org/10.5281/zenodo.10183570>

9. Nielsen SE , Schjoedt KJ, Astrup AS, Tarnow L, Lajer M, Hansen PR, Parving NH, Rossing P. Липокалин, ассоциированный с нейтрофильной желатиназой (NGAL), и молекула повреждения почек 1 (KIM1) у пациентов с диабетической нефропатией: поперечное исследование и эффекты лизиноприла. *Diabet Med* . 2010; 27 :1144-1150

10. Involvement of the lungs in the hemostatic system and its disorders in acute respiratory diseases./Tursunov D.X., Omonov A.A., Mo'yudinov O. X.// Научный Импульс Международный научный журнал № 7 (100), часть 2 «Новости образования: исследование в XXI веке» .(2023);251-256 bet.

11. Persson F, Rossing P. Kidney, 2011; Климонтов В.В., Корбут А.И., Bruno G , Merletti F, Bargero G, Novelli G, Melis D, Soddu A, Perotto M, Pagano G, Cavallo-Perin P. Расчетная скорость клубочковой фильтрации, альбуминурия и смертность при диабете 2 типа: исследование // *Casale Monferrato. Diabetologia* . 2019. -Vol. 5. - P.941-948.

12. Хуссейн С., Джамали М.С., Хабиб А., 2021 // *Consilium Medicum*. - 2021. - №4. - С. 734-736.

13. Хейл Л.П., Прайс Д.Т., Санчес Л.М. и др., 2001.

14. Chou KM , Lee CC, Chen CH, Sun CY. Клиническое значение NGAL, L-FABP и альбуминурии в прогнозировании снижения СКФ у пациентов с сахарным диабетом 2 типа. *PLoS One* . 2013; 8 :e54863

15. Diagnostic features of hypercoagulation syndrome in type 2 diabetes: clinical lab insights. / A.A.Omonov.//*International Multidisciplinary Research in Academic Science (IMRAS)*.//Volume.6, Issue: 07,November(2023) // 540-541

16. Мухамедова Н.Х., Шукурова У.П., Собирова М.Р. Роль цистатина С в диагностике поражений почек различного генеза // *Инновационные подходы к решению актуальных проблем современной биохимии: Междунар. науч.-практ. конф. Ташкентская медицинская академия. - Ташкент, 2021. - С. 41-43.*