

Вклад ожирения в поражение почек при сахарном диабете (экспериментальное исследование)

И.М. Кутырина, Е.Ю. Федорова

ГОУ ВПО Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова Росздрава

Сахарный диабет 2 типа (СД 2) в настоящее время является наиболее распространенной причиной поражения почек с исходом в терминальную почечную недостаточность (ТПН), что нередко определяет прогноз основного заболевания [1, 2, 3, 4]. Результаты исследования MRFIT (Multiple Risk Factor Intervention Trial) показывают, что само по себе наличие СД увеличивает вероятность необратимого ухудшения функции почек в 12 раз [5]. Уремия как причина смерти пациентов с СД 2, нередко опережает по частоте сердечно-сосудистые осложнения. В работе N.A. Roper и соавт. [6] показано, что смертность больных СД 2 с патологией почек значительно выше, чем среди больных с нормальной функцией почек.

В этой связи ранняя диагностика поражения почек при СД является важной задачей, так как выявление даже самых ранних стадий заболевания требует незамедлительного вмешательства. В то же время выбор методов профилактики и лечения должен быть основан на уточнении механизмов развития и прогрессирования поражения почек, изучению которых в последние годы уделяется все большее внимание.

Среди факторов, имеющих значение в формировании диабетической нефропатии (ДН), выделяют несколько. Важнейшие среди них: метаболические (гипергликемия, гиперлипидемия, гиперурикемия), гемодинамические (внутриклубочковая гипертензия, системная гипертония), гормональные (гиперинсулинемия, активация локальнопочечной ренин-ангиотензиновой системы (РАС)), клеточные (цитокины, факторы роста и др.).

Ожирение со свойственным ему целым рядом метаболических и гормональных нарушений вносит свой собственный специфический дополнительный вклад в развитие поражения почек при СД 2.

Целью нашего исследования было изучить вклад ожирения в развитие и прогрессирование поражения почек при СД 2 в условиях эксперимента.

Материал и методы исследования

Практически единственной моделью, на которой можно оценить вклад ожирения в развитие поражения почек при СД 2 является модель крыс SHR-N/cp, достаточно полно отображающая клинко-морфологическую картину, характерную для этого заболевания у человека [7, 8].

Модель крыс штамма SHR/N-cp, выведенного К. Хансеном [9, 10] при скрещивании крыс с развитием спонтанной гипертензии (SHR) и крыс Колетцкого (cornulent – cp), достаточно полно отображает клинко-морфологическую картину, характерную для ожирения с последующим развитием СД 2 у человека. Ген *cp* (ген корпулентности, или ожирения), обуславливающий развитие ожирения, инсулинорезистентности тканей, нарушения толерантности к глюкозе или гипергликемии и склонность к гиперлипидемии, наследуется по аутосомно-рецессивному пути. Крысы – гомозиготы *cp/cp* – являются нерепродуктивными, их выводят путем скрещивания гетерозиготных особей. Пенетрантность *cp*-гена составляет 100%. При разведении получают три генотипа в соотношении 1:2:1 с двумя фенотипами: 1) крысы с ожирением, развивающие в

возрасте 8–10 недель СД 2, – гомозиготы (*cp/cp*); 2) крысы с нормальной массой тела, не развивающие СД 2, – гетерозиготы (*cp/+*) и гомозиготы (*+/+*), также не развивающие СД 2.

В соответствии с задачами обследовано 16 крыс штамма SHR-N/cp. В группу с ожирением и СД 2 вошли гомозиготы по *cp*-гену, страдающие ожирением и СД 2. Крысы, гетерозиготы (*cp/+*) или гомозиготы (*+/+*), имеющие нормальную для своего пола и возраста массу тела, вошли в группу контроля – крысы без СД 2.

Исследование проводилось на базе Отделения Лабораторных животных Гейдельбергского Университета, Германия. Согласно характеристике модели животных, все крысы имели равной степени выраженности артериальную гипертонию, которая существенно не изменялась в ходе проведения эксперимента и, следовательно, не могла внести дополнительные изменения в поражение почек. Все крысы содержались на стандартной диете (Altromin 1324) и имели свободный доступ к пище без ограничения потребляемого корма.

В течение 24 недель всем животным регулярно проводили измерение массы тела (3 раза в неделю), уровня глюкозы натошак в крови из хвостовой вены с помощью глюкометра Elite Sensor, Bayer, Мюнхен (2 раза в неделю), определяли с помощью хвостовой платизмографии (каждые 2 недели) АД, уровень альбуминурии (АУ) иммуноферментным методом с помощью прибора MRX Revelation UV фирмы DYNEX, Германия (1 раз в 4 недели), оценивали натошак уровни сывроточного креатинина, мочевоы кислоты, глюкозы однократно в конце исследования.

После 24 недель проводился забой животных с предварительной ретроградной перфузионной фиксацией. После вскрытия оценивали морфометрические показатели почек: массу каждой почки, количество нефронов в почках, величину почечных клубочков, вычисляли отношение массы почек к общей массе тела крыс.

Оценку степени повреждения почек проводили на PAS-окрашенных парафиновых срезах при помощи световой микроскопии. Определяли индекс гломерулосклероза (иГС) [11], индексы тубулоинтерстициальных (иГИИ) и сосудистых (иСИ) изменений [12].

Статистический анализ. Все результаты представлены в виде средних значений $\pm$ стандартное отклонение исследуемых показателей в группе. При оценке достоверности различий групп друг с другом использовался метод One-Way ANOVA, LSD-тест; статистическая программа SPSS Счетного Центра Гейдельбергского Университета. Достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В процессе проведения эксперимента установлено, что у крыс штамма SHR/N-cp, страдающих прогрессирующим ожирением с развитием СД 2, к концу периода наблюдения развивалось поражение почек. Клинически оно проявлялось повышением уровня креатинина сывротки крови, гиперурикемией и высоким уровнем суточнот альбуминурии (табл. 1).

В почках этих особей выявлены выраженные морфологические изменения в виде гипертрофии клубочков (гломеру-

Таблица 1

Биохимические параметры крови и уровень суточной альбуминурии		
Фенотип	Крысы с нормальной массой тела	Крысы с ожирением и СД 2
п	п=9	п=7
Глюкоза сыв. натошак, мг/дл (N до 110 мг/дл)	98±6 ¹⁾	252±53
Креатинин сыв., мг/дл (N до 1,2 мг/дл)	0,8±0,3 ¹⁾	2,6±0,6
Мочевая к-та сыв., мг/дл (N до 60 мг/дл)	56±7 ¹⁾	107±40
Альбуминурия, мг/24 ч	33,2±14,8 ¹⁾	176,3±76,5

¹⁾ p < 0,05, различия в средних значениях между особями с нормальной массой тела и особями, страдающими ожирением и СД 2.

ломегалия), расширения мезангия с пролиферацией мезангиальных клеток, диффузным склерозированием почечной ткани, интерстициальным фиброзом, атрофией канальцев, утолщением сосудистой стенки. У крыс с ожирением и СД 2 по сравнению с особями с нормальной массой тела эти изменения проявлялись более высокими показателями иГС, иТИИ и иСИ (рис.).

Данные морфометрии. Доля массы почек к общей массе крыс с ожирением и СД 2 была значимо ниже по сравнению с худыми особями. Абсолютное число клубочков в каждой почке было одинаковым, независимо от массы тела (32637±4224 vs 34368±4737). Средний объем клубочков был достоверно выше у всех крыс с ожирением и СД 2 по сравнению с худыми особями (3,45±0,88 vs 2,45±0,34 106 м³ соответственно), что указывало на их гипертрофию (гломеруломегалию) (табл. 2).

Так как согласно законам математики давление пропорционально поверхности, на которую оно распространяется [13], было сделано заключение, что гипертрофированные клубочки жирных особей находятся в состоянии внутриклубочковой гипертензии.

Обращает на себя внимание факт, что, несмотря на гипертрофию клубочков, показатель доли массы почки к общей массе тела у крыс с ожирением и СД 2 был достоверно ниже, чем у худых крыс. Более того, у животных с ожирением и СД 2 в сравнении с крысами с нормальной массой тела без

Таблица 2

Антропометрические и морфометрические параметры		
Фенотип	Крысы с нормальной массой тела	Крысы с ожирением и СД 2
п	п=9	п=7
Масса тела, г	489±41 ¹⁾	674±60
Масса почки/масса тела × 1000	3,9±0,09 ¹⁾	3,46±0,56
Средний гломерулярный объем, 106 м³	4,74±0,41 ¹⁾	5,35±1,18
Абсолютное число клубочков в почке	28291±3595	27384±4375

¹⁾ p < 0,05, различия в средних значениях между особями с нормальной массой тела и особями, страдающими ожирением и СД 2.

СД 2 выявлены достоверно более высокие значения уровня глюкозы крови, креатинина сыворотки, мочевой кислоты и микроальбуминурии (табл. 1). Представленные данные дают возможность обсуждать следующую последовательность развития дисфункции почек.

При развитии ожирения общая площадь поверхности фильтрации обычного числа нефронов не способна длительно выдерживать нагрузку избытком метаболитов на адекватном уровне. В таких условиях действие гормонов и факторов роста, продуцируемых жировой тканью (лептин, ангиотензин II, фактор некроза опухоли-α), направлено на формирование гипертрофии клубочков через гиперплазию их клеточного состава [14]: мезангиальных клеток, клеток капиллярных петель, что ведет к увеличению коэффициента ультрафильтрации и, как следствие, общей фильтрации на поверхность тела. По-видимому, данный механизм первоначально носит компенсаторный характер и направлен на обеспечение адекватной депурационной функции почек. Для его поддержания происходит подключение почечного резерва за счет функционально малоактивных нефронов. Однако при прогрессировании ожирения гипертрофированные клубочки с увеличенной поверхностью фильтрации более не могут адекватно обеспечивать функцию депурации, что ведет к постепенному развитию недостаточности функции очищения крови.

Данный механизм подтверждают наблюдения, когда при нормальном числе нефронов при рождении, в условиях ожирения постепенно развивается относительный дефицит массы нефронов – состояние **относительной олигоневрии**, т. е. снижение доли массы почек по сравнению с общей массой тела. В качестве реакции компенсации в этих условиях происходит активация локально-почечной РАС и увеличение внутриклубочкового давления, т. е. основного повреждающего фактора при СД. Свойственная ожирению гиперлептинемия и другие вазоактивные факторы, вырабатываемые адипоцитами, приводят к дальнейшему увеличению объема жировой ткани. Нарастающее ожирение на фоне развития относительной олигоневрии и уже имеющихся нарушений внутрипочечной гемодинамики (внутриклубочковой гипертензии и гиперфильтрации) приводит к нарушению депурационной функции и появлению альбуминурии, а затем и протеинурии.

Формирование внутриклубочковой гипертензии, которая считается ведущим гемодинамическим фактором прогрессирования поражения почек, способствует развитию гломерулосклероза [15, 16, 17]. Склерозирование почечных клубочков приводит к уменьшению массы действующих нефронов, истощению функционального почечного резерва и развитию истинной олигоневрии. Данная концепция основывается на гипотезе В. Brenner и соавт. (1997) о развитии АГ и патологии почек вследствие врожденного дефицита общего числа функционирующих нефронов (истинная олигоневрия) и/или сниженной площади поверхности фильтрации [18].

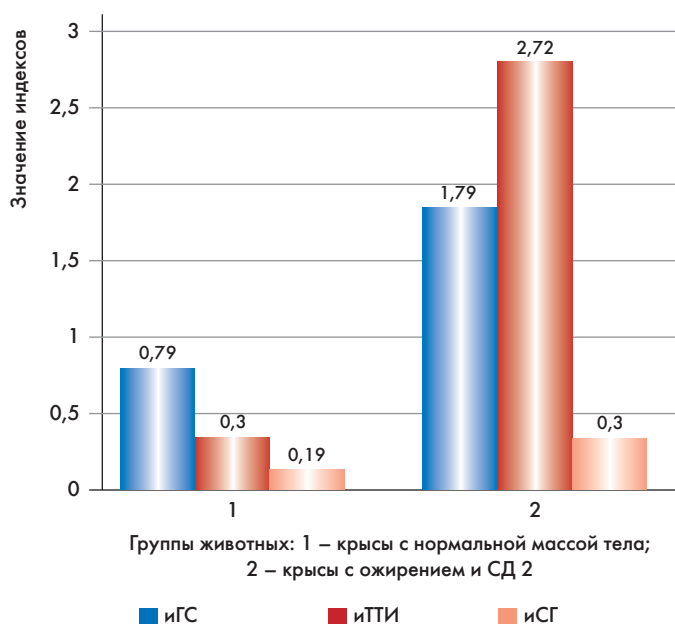


Рис. Сравнение морфологических индексов поврежденных почек

Концепция относительной олигонефронии при прогрессирующем ожирении находит свое подтверждение в нормализации внутрипочечной гемодинамики (исчезновении внутриклубочковой гипертензии и гиперфилтрации) у лиц с ожирением при выраженной потере ими массы тела [19]. Другим доказательством правомерности данного заключения служат данные ретроспективного анализа, проведенные М. Praga и соавт. [20] и Е. Gonzalez и соавт. [21]. Авторы наблюдали частоту развития хронической почечной недостаточности (ХПН) и ТПН у лиц после односторонней нефрэктомии. Оказалось, что у лиц с ожирением после односторонней нефрэктомии ХПН и ТПН развивается в 92% случаев, в то время как у лиц с нормальной массой тела – только у 12%.

Таким образом, проведенные нами исследования дали возможность заключить, что:

- избыточная масса животных является фактором, способствующим развитию поражения почек;
- у крыс с ожирением и СД 2 имеет место снижение доли массы почек к общей массе животного – состояние относительной олигонефронии;
- у крыс с ожирением формируется гломеруломегалия, приводящая к развитию внутриклубочковой гипертензии;
- при длительном существовании ожирения постоянное воздействие внутриклубочковой гипертензии приводит к дисфункции почки, снижению депурационной функции, появлению сначала микроальбуминурии, а затем и протеинурии и развитию гломерулосклероза.

Литература

1. Дедов И.И., Шестакова М.В. Диабетическая нефропатия. – М., 2000.
2. Gross J.L., de Azevedo M. J., Silveiro S.P. et al. Diabetic Nephropathy: Diagnosis, Prevention, and Treatment.// *Diabetes Care*. – 2005. – Vol. 28. – P. 164–176.
3. Humphrey L.L., Ballard D.J., Frohner P.P. et al. Chronic renal failure in non-insulin-dependent diabetes mellitus.// *Ann Intern Med*. – 1989. – Vol.111. – P. 788–796.
4. Kramer H., Molitch M. E. Screening for kidney disease in adults with diabetes.// *Diabetes Care*. – 2005. – Vol. 28. – №7. – P. 1813–1816.
5. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. MRFIT: Risk factor changes and mortality results.// *J Am Med Ass* – 1982 – 248 – P. 1465 –1477.
6. Roper N., Bilous R., Kelly W., Unwin N., Connolly V. Excess mortality in a population with diabetes and the impact of material deprivation: longitudinal, population based study.// *BMJ* - 2001 – P. 1389–1393.
7. Velasquez M., Kimmel P., Michaelis O. Animal models of spontaneous diabetic kidney disease.// *FASEB J*. – 1990 – 4 – P. 2850–2859.
8. Bower G., Brown D., Steffes M., Verner R., Maurer S. Studies of the Glomerular Mesangium and the Juxtaglomerular Apparatus in the genetically diabetic mouse.// *Laboratory Investigation* – 1980 - Vol. 43 – No 4 – P. 333.
9. Hansen C.T. Two congenetic rat strains for nutrition and obesity research.// *Fed Proc*. – 1983. – Vol. 42. – P. 537.
10. Turley D.T., Hansen C.T. Rates of sterol synthesis in the liver and extra-hepatic tissues of the SHR/N-cp rat, an animal with hyperlipidemia and insulin-independent diabetes.// *Journal of lipid research*. – 1986. – Vol.27. – P. 486–496.
11. El Nahas A.M., Basset A.H., Cope G.H., Le Carpentier J.E. Role of growth hormone in the development of experimental renal scarring.// *Kidney Int*. – 1991. – Vol. 40. – P. 29–34.
12. Veniant M., Heudes D., Clozel J.P., Bruntval P., Menard J. Calcium blockade versus ACE inhibition in clipped and unclipped kidneys of 2K-1C rats.// *Kidney Int*. – 1994. – Vol. 46 (2). – P. 421–429.
13. Yoshida Y., Fogo A., Ichikawa I. Glomerular hypertrophy has a greater impact on glomerular sclerosis than adaptive hyperfunction in remnant nephrons.// *Kidney Int*. – 1988. – Vol.33. – P. 327.
14. Henegar J.R., Bigler S.A., Henegar L.K., Tyagi S.C. and Hall J.E. Functional and structural changes in the kidney in the early stages of obesity.// *J. Am. Soc. Nephrol*. – 2001. – Vol.12. – P. 1211–1217.
15. Кутырина И.М., Тареева И.Е., Шестакова М.В., Зверев К.В. Нарушение внутрипочечной гемодинамики при гломерулопатиях// *Вестн. РАМН*. – 1995. - № 5. – С. 47–52.
16. Тареева И.Е. Механизмы прогрессирования гломерулонефрита// *Тер. архив*. – 1996. - № 6. – С. 5–10.
17. Brenner B.M., Lawler E.V., Mackenzie H.S. The hyperfiltration theory: A paradigm shift in nephrology.// *Kidney Int*. – 1996. – Vol.49. – P. 1774–1777.
18. Brenner B.M., Mackenzie H.S. Nephron mass as a risk factor for progression of renal disease.// *Kidney Int*. – 1997. – Vol.52 [Suppl. 63]. – P. S124–S127.
19. Praga M. Synergy of low nephron number and obesity: a new focus on hyperfiltration nephropathy.// *Nephrol.Dial.Transplant* – 2005 - №20 – P. 2594–2597.
20. Praga M., Hernandez E., Herrero JC et al. Influence of obesity on the appearance of proteinuria and renal insufficiency after unilateral nephrectomy.// *Kidney Int*. – 2000 - Vol. 58 – P. 2111–2118.
21. Gonzalez E., Gutierrez E., Morrales E. et al.// Factors influencing the progression of renal damage in patients with unilateral renal agenesis and remnant kidney.// *Kidney Int*. – 2005 – Vol.68 – P. 263–270.