



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Original Papers

I. Topchii, P. Semenovykh, T. Shcherban, V. Galchinska, K. Savicheva

doi: 10.31450/ukrjnd.3(67).2020.08

Serum Klotho protein level in type 2 diabetic patients depending on the renal function

Government Institution “L.T.Malaya Therapy National Institute of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kharkiv, Ukraine

Citation:

Topchii I, Semenovykh P, Shcherban T, Galchinska V, Savicheva K. Serum Klotho protein level in type 2 diabetic patients depending on the renal function. Effect of classic soft drink Coca-Cola as a solvent in the administration of tramadol and diazepam on biochemical and histological changes in liver and kidney. Ukr J Nephrol Dial. 2020;3(67):60-66. doi: 10.31450/ukrjnd.3(63).2020.08

Abstract. *The study aimed to assess serum Klotho protein level in type 2 diabetic patients depending on kidney function.*

Methods. *This observational study included 72 patients with diabetes mellitus (DM) and 26 patients with acute coronary syndrome. The control group consisted of 20 healthy subjects. Depending on the presence of albuminuria and glomerular filtration rate (GFR), the diabetics were divided into the following groups: group I included the patients with normal GFR and without albuminuria (n = 25); group II consisted the patients with normal GFR and albuminuria (n = 23); group III – the patients with reduced GFR and albuminuria (n = 24) and group IV included the patients with acute coronary syndrome (n = 26).*

The GFR was calculated using the CKD EPI formula (KDIGO 2012). The concentration of Klotho protein was determined by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results. *The development of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients accompanied by a significant decrease of soluble Klotho compared with the controls and the patients of the 1-st group. The level of Klotho protein in the group of patients with albuminuria decreased to (490.66 ± 58.76) pg/ml (p < 0.05). The lowest concentration of Klotho (443.58 ± 46.92) pg/ml was found in the advanced stages of diabetic nephropathy, namely in patients with albuminuria and impaired renal function. Moreover, a significantly decreased serum Klotho was observed in acute coronary syndrome group in comparison with the control group (p < 0.05). There were inverse correlations of Klotho concentration with urinary albumin and blood creatinine levels and a direct correlation between Klotho and GFR.*

Conclusions. *The obtained data indicated the key role of Klotho protein in the formation of renal pathology in type 2 diabetes and the feasibility of practical use of Klotho determination as an early diagnostic marker of renal disorders and cardiovascular risk assessment. The strategies improving Klotho production may be useful in the reduction of both renal and vascular lesions progression in type 2 diabetic patients.*

Keywords: *diabetes mellitus, diabetic nephropathy, Klotho protein.*

Conflict of interest statement. The authors declare no competing interest.

Article history:

Article history:
Received June 22, 2020
Received in revised form
June 27, 2020

© Topchii I., Semenovykh P., Shcherban T., Galchinska V., Savicheva K., 2020.

Correspondence should be addressed to Polina Semenovykh: polinasemenovykh@ukr.net



© Топчій І. І., Семенових П. С., Щербань Т. Д., Гальчінська В. Ю., Савічева К. О., 2020

УДК 616.379-008.64-092:616.61:612.398

І.І. Топчій, П.С. Семенових, Т.Д. Щербань, В.Ю. Гальчінська, К. О. Савічева

Вміст білка Клото у сироватці крові хворих на цукровий діабет 2 типу залежно від функціонального стану нирок

Державна установа «Національний інститут терапії імені Л.Т.Малої
НАМН України», м. Харків, Україна

Резюме. *Мета роботи:* вивчення клініко-лабораторних показників та вмісту білка Клото в сироватці крові хворих на ЦД 2 типу залежно від функціонального стану нирок.

Матеріал та методи. В процесі виконання дослідження обстежено 72 хворих на ЦД 2-го типу та 26 хворих на гострий коронарний синдром (ГКС). Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб. Після первинного обстеження в залежності від рівня ШКФ, альбумінурії та наявності гострого коронарного синдрому (ГКС) пацієнти були розподілені на наступні групи: I група – хворі на ЦД 2 типу без ознак нефропатії – з нормальною ШКФ та без альбумінурії (n=25); II група – хворі на ЦД 2 типу з нормальною ШКФ та альбумінурією (n=23); III група – хворі на ЦД 2 типу зі зниженою ШКФ та альбумінурією (n=24); IV група – хворі на ГКС (n=26). ШКФ розраховували за формулою СКД-EPI (KDIGO 2012). Концентрацію білка Клото визначали методом імуноферментного аналізу.

Результати. Розвиток ДН у хворих на ЦД 2 типу супроводжується вірогідним зниженням рівнів розчинного білка Клото в плазмі крові у порівнянні з контролем та з хворими на ЦД без ознак нефропатії. Рівень білка Клото в групі хворих на ДН з альбумінурією знижувався до (490,66 ± 58,76) нг/мл, (p < 0,05). Найнижчі значення Клото (443,58 ± 46,92) нг/мл виявлено на пізніх стадіях ДН - у хворих з альбумінурією та порушенням фільтраційної функції нирок. Доведено, що при ГКС має місце вірогідне зменшення вмісту протеїну Клото в сироватці крові у порівнянні з контролем, (p < 0,05). Встановлено зворотній кореляційний зв'язок концентрації білка Клото з рівнями альбуміну сечі й креатиніну крові та прямий кореляційний зв'язок зі ШКФ, що доводить безперечну роль нирок в розвитку кардіоренального синдрому у пацієнтів з ДН.

Висновки. Отримані дані свідчать про безпосередню участь білка Клото в формуванні ниркової патології при ЦД 2 типу і доцільність практичного використання визначення Клото в сироватці крові хворих в якості раннього діагностичного маркера ниркових порушень та оцінки кардіоваскулярного ризику. Розробка стратегій по підвищенню продукції Клото може сприяти зниженню темпів прогресування як ниркових, так і судинних уражень при ЦД 2 типу.

Ключові слова: цукровий діабет, діабетична нефропатія, білок Клото

Вступ. На даний час приблизно 387 мільйонів дорослого населення в усьому світі страждає на цукровий діабет (ЦД). Захворюваність діабетом невинно зростає головним чином за рахунок ЦД 2 типу і, згідно прогнозам епідеміологів, до 2035 року число хворих становитиме 592 мільйонів [1].

Глобальне зростання поширеності ЦД і пов'язаних з ним метаболічних розладів призводить до істотного росту діабетичних ускладнень, які значно знижують якість життя і підвищують рівень смертності пацієнтів [2].

Одним з найбільш важких ускладнень ЦД є діабетична нефропатія (ДН), яка характеризується склеротичними, запальними та фібротичними змінами в тканині нирок, прогресивним зниженням фільтраційної функції нирок, наслідком чого

є розвиток хронічної ниркової недостатності (уремії). Клінічно ДН проявляється альбумінурією, артеріальною гіпертензією і зниженням швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ). За даними різних авторів дане ускладнення розвивається у 20-40% пацієнтів на ЦД [3, 4]. Відзначається, що ДН супроводжується більш різким, в порівнянні з недіабетичними нефрологічними захворюваннями, погіршенням функції нирок L. Li і співавт. (2016) [5]. Згідно статистичним даним, у 30-40 % пацієнтів, які потребують нирково-замісної терапії діалізом, ниркова недостатність є наслідком ДН, поширеність якої продовжує наростати, частково через те, що виживаність хворих на ЦД 2 типу покращилась внаслідок зниження випадків смертності від серцево-судинних подій [6, 7]. У 2009-2011 рр. ЦД привів до термінальної стадії хронічної хвороби нирок приблизно у 60 % гемодіалітичних пацієнтів в Малайзії, Мексиці, Сінгапурі і у 40-50 % - в Ізраїлі, Кореї, Японії, США, Новій Зеландії (Centers for Disease Control and Prevention, 2011). Крім того, діабетичне ураження нирок призводить до високої серцево-судинної захворюваності та смертності і суттєвого зниження якості життя хворих. В результаті ДН

Семенових Поліна Станіславівна

polinasemenovukh@ukr.net

стає важким економічним тягарем як для хворого, так і для держави в цілому.

Особливістю ниркових ускладнень у пацієнтів з ЦД 2 типу є гетерогенність патології нирок, що практично не дозволяє диференціювати класичну ДН за визначенням екскреції білка, як при ЦД 1 типу. В даний час з метою діагностики ниркової патології прийнято термін хронічної хвороби нирок (ХХН), який представляє собою узагальнююче поняття і дозволяє оцінити наявність і тяжкість ураження нирок незалежно від причини ушкодження [4, 8]. Під ХХН розуміють наявність одного або більше лабораторних, структурних або функціональних ознак пошкодження нирок тривалістю ≥ 3 місяців або ізольоване зниження швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) < 60 мл/хв/1,73м².

Розвиток ДН прогресує через кілька клінічних стадій. Спочатку реєструють гіпертрофію нирок і гломерулярну гіперфільтрацію. Надалі, після клінічно безсимптомної стадії, у пацієнтів розвивається мікроальбумінурія (втрата 30-300 мг альбуміну за добу), за яким слідує макроальбумінурія (> 300 мг альбуміну за добу) і подальше зниження ШКФ. Нарешті, може розвинути кінцева стадія ниркового захворювання. Проте, не у всіх пацієнтів з порушенням функції нирок спостерігається альбумінурія, що наводить на думку про те, що при ЦД 2 типу протеїнурія не завжди передують зниженню ШКФ. Крім того, в кількох дослідженнях було описано регресію мікроальбумінурії до нормоальбумінурії. Даний факт пояснюється посиленням контролю глікемії та артеріального тиску [9].

В останні 3 десятиліття були проведені інтенсивні експериментальні та клінічні дослідження з метою виявлення факторів ризику і патофізіологічних механізмів діабетичного ураження нирок. Отримані результати свідчать, що патологічні зміни в нирках при ЦД 2 типу розвиваються в результаті складних взаємодій між метаболічними та гемодинамічними факторами на фоні генетичної схильності. Хронічна гіперглікемія відіграє центральну роль у розвитку та прогресуванні діабетичної хвороби нирок, в той час, як кластер кардіометаболічних порушень (включаючи ожиріння, системну гіпертензію, гломерулярну гіперфільтрацію, альбумінурію та дисліпідемію) також сприяє формуванню фібротичних змін в нирковій тканині і загибелі нефронів. В якості медіаторів даних процесів дослідники розглядають ряд біологічно активних агентів, зокрема, цитокіни, фактори росту і вазоактивні речовини [10, 11].

Проте, незважаючи на значний прогрес в вивченні патологічних шляхів розвитку ДН, дотепер немає єдиної думки про механізми, які приймають участь в формуванні даного захворювання.

Безумовно, потрібні більш сучасні дані та подальші дослідження в цьому напрямку для визначення причин виникнення та прогресування діабетичного ураження нирок.

Мета роботи: вивчення клініко-лабораторних показників та вмісту білка Клото у сироватці крові хворих на ЦД 2 типу залежно від функціонального стану нирок.

Матеріал та методи. Дослідження проводились у відділі нефрології на базі клінічного відділення гіпертензій та захворювань нирок ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України». Функціональні дослідження були виконані у відділенні функціональної та ультразвукової діагностики. Імуноферментні та молекулярно-генетичні дослідження виконували у лабораторії імуно-біохімічних і молекулярно-генетичних досліджень. Лабораторні дослідження проводились у клініко-діагностичній лабораторії.

Дослідження виконані згідно міжнародних стандартів щодо погодженої участі обстежених, етичної складової виконання досліджень та взяття біоматеріалу. Хворі, які брали участь в дослідженні, підписували інформовану згоду на участь у ньому. Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964-2013 рр.), ІСН GCP (1996 р.), директиви ЄЕС №609 від 24.11.1986 р., наказів МОЗ України №690 від 23.09.2009 р., №616 від 03.08.2012 р.

Діагноз ХХН встановлювався згідно класифікації, прийнятої на VI Національному з'їзді нефрологів України в 2017 р. Стан компенсації ЦД оцінювали за концентрацією глікозильованого гемоглобіну HbA1c.

В процесі виконання дослідження обстежено 72 хворих на ЦД 2-го типу та 26 хворих на гострий коронарний синдром (ГКС), що перебували на лікуванні в клініці ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України». Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб відповідного віку.

Критеріями включення пацієнтів були: наявність ЦД 2 типу або гострого коронарного синдрому, підписання інформованої згоди на участь у дослідженні. Критеріями виключення пацієнтів були: вік менше 18 років, вагітні жінки, хворі з декомпенсацією ЦД, наявність первинної патології нирок (сечокам'яна хвороба, інфекції сечовивідних шляхів, уроджені аномалії нирок), термінальна стадія ниркової недостатності, тяжкі захворювання печінки, злаякісні новоутворення, захворювання системи крові, відсутність інформованої згоди.

Усі хворі та особи контрольної групи були обстежені згідно наступного плану: загально-клінічне обстеження; антропометричне обстеження; лабораторне обстеження (клінічні аналізи крові та сечі); визначення функціонального стану нирок шляхом розрахунку ШКФ; визначення альбумінурії; визначення показників вуглеводного обміну; визначення ліпідного спектру крові; електрокардіографія (ЕКГ); ехокардіографія.

Після первинного обстеження в залежності від рівня ШКФ, альбумінурії та наявності гострого коронарного синдрому (ГКС) пацієнти були розподілені на наступні групи: I група – хворі на ЦД 2 типу без ознак нефропатії - з нормальною ШКФ та без альбумінурії (n=25); II група – хворі на ЦД 2 типу з нормальною ШКФ та альбумінурією (n=23); III група – хворі на ЦД 2 типу зі зниженою ШКФ та альбумінурією (n=24); IV група – хворі на ГКС (n=26).

Серцева гемодинаміка вивчалася методом кількісної ехокардіографії із розрахунками параметрів за Teicholz L. et al. (1972). Рівень альбумінурії визначали методом Робертса-Стольникова. ШКФ розраховували за формулою СКД-ЕРІ (KDIGO 2012). Ліпідний спектр крові - загальний холестерин (ЗХС), холестерин ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), тригліцериди (ТГ) визначали імуноферментним методом. Вміст глікованого гемоглобіну HbA1c (%) визначали фотометричним іонообмінним методом згідно інструкції до набору реактивів фірми Human (Німеччина). Концентрацію білка Клото визначали методом імуноферментного аналізу з використанням тест-системи виробництва Immuno Biologic Laboratories Co. Ltd. (Японія). Діапазон концентрацій, що вимірюються становив від 93,8 до 6000 пг/мл. Мінімальна концентрація Клото, що визначається, не перевищує 6,15 пг/мл.

Математичний аналіз метричних даних проводили з використанням варіаційної статистики за стандартними ліцензійними комп'ютерними програмами. Відмінності між групами середніх величин та їх похибки ($M \pm m$) оцінювали за допомогою критерію Ст'юдента-Фішера. Достовірною вважалася ймовірна похибка менше 5% ($p < 0,05$). Перевірку нормальності розподілу показників здійснювали за допомогою тесту Колмогорова-Смірнова. Кореляцію кількісних ознак оцінювали шляхом розрахунку коефіцієнта Пірсона.

Результати. З метою кращого розуміння механізмів асоціації білка Клото з ДН, а також з серцево-судинними ускладненнями, були відібрані хворі на ЦД 2 типу з діабетичним ураженням нирок (наявність альбумінурії та зниження ШКФ) або без ниркових порушень, пацієнти з серцево-судинною патологією (гострий коронарний синдром) і здорові добровольці. В цих групах були оцінені рівні білка Клото в сироватці крові, а також інші клінічні параметри.

При оцінці клінічних та лабораторних характеристик особливу увагу приділяли вивченню обміну глюкози, дослідженню рівнів ліпідів, концентрації креатиніну сироватки крові, вмісту сечовини та сечової кислоти, рівнів альбумінурії та ШКФ. Отримані дані представлено у таблиці 1.

Таблиця 1

Основні клінічні характеристики та лабораторні параметри в обстежених групах ($M \pm m$)

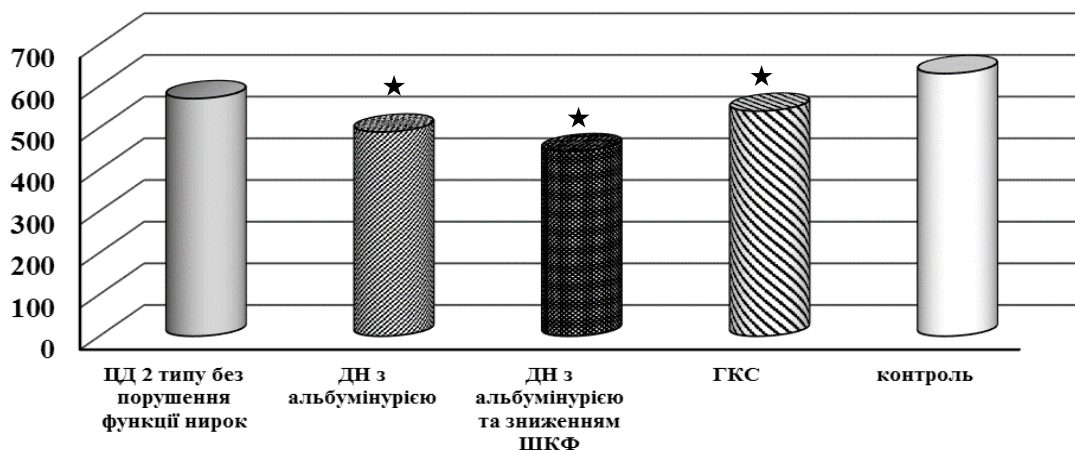
Показник	Контроль n=20	ЦД 2 типу n=25	ЦД 2 типу з ДН n=47	ГКС n=26	p	
1	2	3	4			
Стать %	чол.	47,2	44,6	43,3	54,1	
	жін.	52,8	55,4	56,7	45,9	
Вік, роки	49,62 ± 4,4	57,55 ± 4,8	63,49 ± 5,6	62,21 ± 5,2		
Тривалість ЦД, роки	-	4,22 ± 0,34	8,32 ± 0,58	-		
САТ, мм рт. ст.	122,34 ± 12,46	136,32 ± 11,51	172,13 ± 23,12	128,46 ± 11,34	$p_{1-3} < 0,02$	
ДАТ, мм рт. ст.	78,16 ± 5,24	81,24 ± 6,45	96,24 ± 4,12	76,28 ± 6,52	$p_{1-3} < 0,05$	
HbA1c, %	5,3 ± 1,14	7,2 ± 3,17	7,9 ± 2,13	4,8 ± 1,27	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,04$	
Креатинін, мкмоль/л	73,27 ± 6,52	84,37 ± 8,96	148,43 ± 12,36	78,56 ± 9,37	$p_{1-3} < 0,02$	
Сечовина, ммоль/л	5,48 ± 0,74	6,32 ± 0,47	14,26 ± 0,19	6,61 ± 0,22	$p_{1-3} < 0,05$	
ШКФ, мл/хв/1,73 м ²	112,16 ± 4,65	93,17 ± 7,55	42,56 ± 3,48	96,18 ± 8,24	$p_{1-3} < 0,04$	
ЗХС, ммоль/л	4,12 ± 1,16	5,04 ± 1,17	6,14 ± 2,15	7,02 ± 4,69	$p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-4} < 0,02$	
ТГ, ммоль/л	1,12 ± 1,23	1,98 ± 0,28	2,64 ± 0,36	1,38 ± 0,36	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,01$	
ЛПВЩ, ммоль/л	1,43 ± 0,04	1,28 ± 0,08	1,12 ± 0,05	1,18 ± 0,03		
альбумінурія, мг/л	15,23 ± 3,13	27,45 ± 2,15	525,45 ± 5,31*	18,32 ± 2,11	$p_{1-3} < 0,02$	

Абревіатура: HbA1c – глікований гемоглобін, ДАТ – діастолічний артеріальний тиск, ЗХС – загальний холестерин, ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності, САТ - систолічний артеріальний тиск, ТГ – тригліцериди, ЦД – цукровий діабет, ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації.

Як видно з наведених в таблиці 1 даних, рівні САТ і ДАТ, концентрації креатиніну та сечовини крові, а також показники альбумінурії були суттєво підвищені у хворих на ДН в порівнянні з контролем та ЦД 2 типу без ознак нефропатії. Крім того, аналіз досліджуваних показників показав, що розвиток ДН залежить від тривалості та ступеня компенсації ЦД і супроводжується порушеннями вірогідним зменшенням ШКФ.

При ДН були виявлені суттєві порушення ліпідного обміну, а саме підвищення вмісту ЗХС і ТГ в сироватці крові. Більш виразні зміни ліпідного спектру крові у пацієнтів з ДН спостерігались при аналізі рівнів ТГ. На відміну від хворих на ЦД, в групі з ГКС мали місце демонстративні зміни ЗХС (табл. 1).

В даному дослідженні ми вивчали вміст розчинного білка Клото в сироватці крові хворих на ЦД 2 типу, ГКС та здорових донорів (рис. 1).



Примітка. ★ – вірогідно у порівнянні з контролем (здорові донори), $p < 0,05$

Рис. 1. Концентрація білка Клото у сироватці крові хворих на ЦД 2 типу, гострий коронарний синдром та здорових донорів.

Як показали результати дослідження, рівень протеїну Клото у досліджуваних хворих коливався від 245,02 до 616,95 пг/мл. У хворих на ДН та ГКС мали місце суттєві зміни вмісту білка Клото в сироватці крові, його рівні були нижчі, ніж у здорових людей та у пацієнтів з ЦД без порушення функції нирок ($p < 0,05$).

Так, в першій групі (ЦД без ниркових порушень) рівень Клото був дещо нижчим, ніж в контролі і становив ($570,15 \pm 62,25$) пг/мл, проте ці зміни не були вірогідними. В другій групі хворих (ДН з альбумінурією) ми спостерігали більш суттєве зни-

ження показника до ($490,66 \pm 58,76$) пг/мл, ($p < 0,05$). Найнижчі значення Клото ($443,58 \pm 46,92$) пг/мл виявлено в третій групі обстежених (ДН зі зниженням ШКФ), ($p < 0,01$). В групі хворих на ГКС вміст Клото в сироватці крові також був вірогідно нижчим, ніж в контролі - ($540,90 \pm 52,15$) пг/мл. В контрольній групі середні значення досліджуваного агента становили ($630,74 \pm 64,71$) пг/мл.

З метою виявлення взаємозв'язку між рівнями білка Клото та основними клініко-лабораторними характеристиками у хворих на ДН нами був проведений кореляційний аналіз, представлений у таблиці 2.

Таблиця 2

Взаємозв'язок між функціональним станом нирок, клініко-лабораторними характеристиками та вмістом Клото в крові хворих на ДН

Показники, що корелюються	r	p
альбумінурія, г/л	- 0,72	< 0,01
креатинін, мкмоль/л	- 0,64	< 0,05
ШКФ, мл/хв/1,73 м ²	+ 0,57	< 0,05
САТ, мм рт.ст.	- 0,42	< 0,05
ДАТ, мм рт.ст.	- 0,51	< 0,04
ЗХС, ммоль/л	- 0,60	< 0,05
НbA1c, %	- 0,49	< 0,05
ІМТ	- 0,17	> 0,05

Абревіатура: НbA1c – глікований гемоглобін, ДАТ – діастолічний артеріальний тиск, ЗХС – загальний холестерин, ІМТ – індекс маси тіла, ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності, САТ – систолічний артеріальний тиск, ТГ – тригліцериди, ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації.

Кореляційний аналіз продемонстрував сильний зворотній зв'язок рівнів Клото з показниками альбумінурії та концентрацією креатиніну, що доводить безперечну роль нирок в розвитку кардіоренального синдрому у пацієнтів з ДН.

Ми виявили, що рівні Клото зворотно корелювали з глікемічним контрольним показником HbA1c і загальним ХС, що вказує на безумовний взаємозв'язок вмісту даного протеїну з ліпідним та вуглеводним обміном. Крім того, встановлено вірогідні негативні кореляційні зв'язки між рівнем Клото в крові та показниками артеріального тиску (див. табл. 2.).

Обговорення. Отримані нами дані стосовно змін концентрації білка Клото при діабеті, ДН та ГКС узгоджуються з роботами інших науковців. Так, Nie F. та співавтори під час обстеження 261 хворого на ЦД 2 типу встановили, що в порівнянні зі здоровими особами, у пацієнтів з нирковими та серцево-судинними ускладненнями, мали місце значно нижчі рівні розчинного Клото в сироватці крові [12]. Автори дійшли висновку, що Клото приймає безпосередню участь в формуванні ниркової патології при ЦД 2 типу і може розглядатися як маркер розвитку та прогресування ДН.

На даний час доведено, що при гострому ішемічному пошкодженні нирок рівень білка Клото в крові і сечі змінюється раніше, ніж рівень відомого біомаркера пошкодження нирок - нейтрофільного ліпокаїну (NGAL), рекомендованого експертами KDIGO як маркера гострого ниркового пошкодження, що дає підставу розглядати Клото як найбільш ранній маркер ниркових уражень [14].

Не викликає сумніву, що ШКФ, золотий стандарт для оцінки функції нирок, значно знижується при ХНН [9]. На даний час, в кількох клінічних та експериментальних дослідженнях встановлено незалежну асоціацію між рівнями Клото (у сироватці та сечі) та ШКФ у дорослих пацієнтів з ХНН. Більш того, було показано, що рівні Клото у сироватці крові поступово знижуються по мірі прогресування ХНН в середньому на 3,2 пг/мл при зменшенні ШКФ на 1 мл/хв/1,73 м² [15]. Ці результати дозволяють припустити, що зниження рівнів розчинного Клото може свідчити про погіршення функції нирок та зменшення ШКФ у пацієнтів з ХНН.

Високу зворотну кореляцію Клото з факторами прогресування судинних ускладнень ЦД відзначають і інші науковці [13, 14, 15]. Порушення продукції Клото пов'язують з гіперглікемією, оксидативним стресом, гіперкоагуляцією, змінами ліпідного обміну та ендотеліальною дисфункцією.

У зниженні експресії Клото в нирках встановлена роль ішемії, внутрішньониркового підвищення ангіотензину II і запалення [18]. Показано, що розчинна форма Клото (s-Klotho) має широкий спектр плейотропних ефектів та функціонує як гуморальний фактор, який захищає серцево-судинну систему

[18]. Адекватна експресія Клото забезпечує як ниркову, так і кардіоваскулярну протекцію.

Проводяться дослідження по можливості медикаментозної корекції дефіциту Клото при ХНН. При інфузії екзогенного білка Клото пацієнтам з гострим нирковим пошкодженням відзначалося значне поліпшення гістологічної картини тубулоінтерстиціальних і гломерулярних змін [18]. Отримані дані підтверджують роль Клото як білка, що має значний ренопротективний ефект.

В наших попередніх дослідженнях активно вивчалися зміни мінерального обміну при діабетичному ураженні нирок. Зокрема, ми виявили порушення вмісту фактору росту фіброblastів 23 (FGF-23), рівнів кальцію та фосфору, які посилювались по мірі прогресування захворювання [16]. Було встановлено взаємозв'язок мінерально-кісткових порушень, і безпосередньо FGF-23, з підвищеним ризиком серцево-судинних ускладнень при ХНН. За даними літератури, мембранна форма Клото діє як облігатний ко-рецептор для FGF-23, індуючи екскрецію фосфатів з сечею [17]. При підвищенні продукції s-Klotho в крові стимулюється FGF-23-опосередкована фосфатурія, посилюється вплив FGF-23 на пригнічення гіперпродукції паратгормону, і тим самим послаблюється тяжкість проявів вторинного гіперпаратиреозу, нормалізується кістковий обмін при ХНН (як за рахунок прямого впливу Клото, так і непрямого - за допомогою збільшення рівня кальцитріолу). У зв'язку з цим, стратегії, направлені на підвищення продукції Клото сприятимуть гальмуванню темпів прогресування ХНН, формування ниркової остеодистрофії і серцево-судинних ускладнень.

Таким чином, з огляду на власні дані та з урахуванням результатів інших досліджень можна зробити висновок про безпосередню участь білка Клото в розвитку нефропатії та серцево-судинної патології при ЦД 2 типу. Безумовно, потрібні подальші дослідження в цьому напрямку, але на даний час не викликає сумніву, що розробка стратегій по підвищенню продукції Клото сприятиме зниженню темпів прогресування як ниркових, так і судинних уражень при ДН.

Висновки. Розвиток ДН у хворих на ЦД 2 типу супроводжується вірогідним зниженням рівнів розчинного білка Клото в плазмі крові у порівнянні з контролем та з хворими на ЦД без ознак нефропатії. Рівень білка Клото у групі хворих на ДН з альбумінурією знижувався до (490,66 ± 58,76) пг/мл, (p < 0,05).

Найнижчі значення Клото (443,58 ± 46,92) пг/мл виявлено на пізніх стадіях ДН - у хворих з альбумінурією та порушенням фільтраційної функції нирок. Доведено, що при ГКС має місце вірогідне зменшення вмісту протеїну Клото в сироватці крові у порівнянні з контролем, (p < 0,05).

Встановлено зворотній кореляційний зв'язок концентрації білка Клото з рівнями альбуміну сечі

й креатиніну крові та прямий кореляційний зв'язок зі ШКФ, що доводить безперечну роль нирок в розвитку кардіоренального синдрому у пацієнтів з ДН.

Отримані дані свідчать про безпосередню участь білка Клото в формуванні ниркової патології при ЦД 2 типу і доцільність практичного використання визначення Клото в сироватці крові хворих в якості раннього діагностичного маркера ниркових порушень та оцінки кардіоваскулярного ризику. Розробка стратегій по підвищенню продукції Клото може сприяти зниженню темпів прогресування як ниркових, так і судинних уражень при ЦД 2 типу.

Література (References):

1. Shaw JE, Sicree R, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2010; 87(1): 4–14. doi: 10.1016/j.diabres.2009.10.007.
2. Reddy MA, Natarajan R. Role of epigenetic mechanisms in the vascular complications of diabetes. *Subcell Biochem.* 2013; 61: 435-454. doi: 10.1007/978-94-007-4525-4_19.
3. Khutorska LA. Poshyrenist, absoliutnyi i vidnosnyi ryzyk rozvytku diabetychnoi nefropatii u khvorykh na tsukrovyy diabet. *Bukovynskyi medychnyi visnyk.* 2012; 16(4): 170-175. Dostupno: http://dspace.bsmu.edu.ua/bitstream/123456789/14982/1/BMV4_181.pdf [In Ukrainian].
4. Fox CS, Matsushita K, Woodward M. Associations of kidney disease measures with mortality and end-stage renal disease in individuals with and without diabetes: a meta-analysis. *Lancet.* 2012; 380 (9854): 1662–1673. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61350-6.
5. Li L, Zhang X. et al. Renal pathological implications in type 2 diabetes mellitus patients with renal involvement. *J. Diabetes Complications.* 2017. 31(1): 114-121. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2016.10.024.
6. Duru OK, Middleton T. et al. The Landscape of Diabetic Kidney Disease in the United States. *Curr. Diab. Rep.* 2018. 18(3):14. doi: 10.1007/s11892-018-0980-x.
7. Phillips A, Steadman R. Diabetic nephropathy: the central role of renal proximal tubular cells in tubulointerstitial injury. *Histol. Histopathol.* 2002. 17(1):247-252. doi: 10.14670/HH-17.247.
8. Couser WG, Remuzzi G, Mendis S et al. The contribution of chronic kidney disease to the global burden of major noncommunicable diseases. *Kidney int.* 2011. 80(12): 1258-1270. doi: 10.1038/ki.2011.368.
9. Dedov YY, Shestakova MV. Dyabetycheskaia nefropatiya. *Unyversum pablyshynh.* 2000. 240 s. [In Russian].
10. Mise K, Imamura M. et al. Identification of Novel Urinary Biomarkers for Predicting Renal Prognosis in Patients With Type 2 Diabetes by Glycan Profiling in a Multicenter Prospective Cohort Study: U-CARE Study 1. *Diabetes Care.* 2018. 41(8): 1765-1775. doi: 10.2337/dc18-0030.
11. Radcliffe NJ, Seah JM et al. Clinical predictive factors in diabetic kidney disease progression. *J. Diabetes Investig.* 2017. 8(1): 6-18. doi: 10.1111/jdi.12533.
12. Nie F, Wu D, Du H. et al. Serum klotho protein levels and their correlations with the progression of type 2 diabetes mellitus. *J. Diabetes Complications.* 2017. 31(3): 594-598. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2016.11.008.
13. Yu L, Kang L, Ren X-Z. et al. Circulating -Klotho levels in hemodialysis patients and their relationship to atherosclerosis. *Kidney Blood Press. Res.* 2018. 43: 1174-1182. doi: 10.1159/000492245.
14. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) *Kidney Int Suppl.* 2009 Aug;(113):1-130. doi: 10.1038/ki.2009.188.
15. Pavik I, Jaeger P et al. Secreted Klotho and FGF23 in chronic kidney disease Stage 1 to 5: a sequence suggested from a cross-sectional study. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2013. 28(2): 352–359. doi: 10.1093/ndt/gfs460.
16. Topchii I, Semenovykh P, Galchiskaya V, Yakymenko Yu, Shcherban T. Association of fibroblast growth factor 23 with markers of inflammation and fibrosis in diabetic nephropathy. *Georgian Medical News.* 2019. 7-8(292-293):44-49. Dostupno: <http://www.geomednews.org/shared/issues/med292-293.pdf> [In Russian].
17. Wan M, Smith C. Fibroblast growth factor 23 and soluble klotho in children with chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2013. 28(1): 153–161. doi: <https://doi.org/10.1093/ndt/gfs411>.
18. Fountoulakis N, Maltese G, Gnudi L et al. Reduced levels of anti-ageing hormone Klotho predict renal function decline in type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2018. 103(5): 2026–2032. doi: 10.1210/jc.2018-00004.
19. Lee EY., Kim SS, Lee J-S, et al. Soluble a-Klotho as a novel biomarker in the early stage of nephropathy in patients with type 2 diabetes. *PLOS ONE.* 2014. 9(8): e102984. doi:10.1371/journal.pone.0102984.