

С.А. Мартынов<sup>1</sup>, М.В. Шестакова<sup>1</sup>, И.М. Кутырина<sup>2</sup>, А.В. Ильин<sup>1</sup>, М.И. Арбузова<sup>1</sup>, И.И. Дедов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Эндокринологический научный центр, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация

## Роль циркулирующих ангиогенных факторов в поражении почек при сахарном диабете

*В статье приведены собственные данные авторов, касающиеся гомеостаза ангиогенных факторов роста (сосудистый эндотелиальный фактор роста — СЭФР, ангиопоэтин 1 и 2 — Анг-1 и Анг-2) при диабетическом поражении почек. Целью исследования была оценка изменения сывороточной концентрации циркулирующих СЭФР, Анг-1 и Анг-2 и их связи с маркерами почечного повреждения (альбуминурия, скорость клубочковой фильтрации) и анемией у больных сахарным диабетом с хронической болезнью почек. В исследование было включено 78 больных сахарным диабетом 1-го и 2-го типа (из них хроническая болезнь почек была диагностирована у 37 человек). Содержание СЭФР в сыворотке было повышено у больных сахарным диабетом 1-го типа с поражением почек и связано со степенью выраженности протеинурии. Уровень циркулирующего Анг-2 был выше при наличии хронического заболевания почек (сахарный диабет 1-го и 2-го типа), почечной недостаточности (сахарный диабет 1-го типа), протеинурии и анемии (сахарный диабет 2-го типа). Анг-2 тесно коррелировал с альбуминурией (сахарный диабет 1-го и 2-го типа), скоростью клубочковой фильтрации (сахарный диабет 1-го типа) и гемоглобином крови (сахарный диабет 2-го типа). Полученные данные свидетельствуют, что диабетическое поражение почек характеризуется повышением концентрации циркулирующих ангиогенных факторов в сыворотке СЭФР и Анг-2 (но не Анг-1), наличием их связи с маркерами повреждения почек и анемией, что говорит о нарушении их гомеостаза и активности при наличии хронических болезней почек у больных сахарным диабетом.*

**Ключевые слова:** ангиопоэтины, диабетическое поражение почек, сахарный диабет, сосудистый эндотелиальный фактор роста.

35

### Введение

Поражение почек при сахарном диабете (СД) характеризуется развитием гипертрофии клубочков, утолщением базальной мембраны клубочков в мезангии и интерстиции, дистрофией канальцевого аппарата с формированием тубулинтерстициального фиброза. Эти изменения, сопровождающиеся внутриклубочковой гипертензией, клинически проявляются повышенной экскрецией альбумина с мочой и прогрессирующей потерей фильтрационной функции почек [1, 2].

Одним из ведущих механизмов в патогенезе диабетического поражения почек является воздействие различных факторов роста, в числе которых находится трансформирующий фактор роста  $\beta$ , инсулиноподобный

фактор роста 1, тромбоцитарный фактор роста и др. [3]. Особое место среди них занимают сосудистые (ангиогенные) факторы. В настоящее время наиболее изученным при диабетической нефропатии (ДН) считается сосудистый эндотелиальный фактор роста (СЭФР), который служит основным стимулятором вазодилатации, проницаемости стенки сосудов, пролиферации и миграции эндотелиальных клеток [4–7]. Роль других ангиогенных факторов, таких как ангиопоэтины 1 и 2 (Анг-1, Анг-2), при диабетическом поражении почек остается малоизученной [8–10].

**Цель исследования:** изучить гомеостаз циркулирующих факторов ангиогенеза (СЭФР, Анг-1, Анг-2) у больных СД с поражением почек и оценить их связь с маркерами почечного повреждения (альбуминурия, скорость

S.A. Martynov<sup>1</sup>, M.V. Shestakova<sup>1</sup>, I.M. Kutyryna<sup>2</sup>, A.V. Ilyin<sup>1</sup>, M.I. Arbuzova<sup>1</sup>, I.I. Dedov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Scientific Centre of Endocrinology, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

## Role of Circulating Angiogenic Factors in Diabetic Kidney Disease

*This original article contains the authors own data on homeostasis of angiogenic growth factors (vascular endothelial growth factor — VEGF, angiopoietin 1 and 2 — Ang-1, Ang-2) in diabetic kidney disease. The aims of study were evaluation of alteration on serum concentration of circulating VEGF, Ang-1 and Ang-2, and of their association with markers of renal damage (albuminuria, glomerular filtration rate) and anemia in patients with diabetes mellitus. We studied 78 patients type 1 diabetes mellitus (T1DM) and type 2 diabetes mellitus (T2DM). Among this group 37 patients had chronic kidney disease. The serum level of VEGF was elevated in T1DM patients and was associated with degree of proteinuria. The serum concentration of Ang-2 was higher in patients with chronic kidney disease (T1DM and T2DM), renal failure (T1DM), proteinuria and anemia (T2DM). Ang-2 strongly associated with albuminuria (T1DM and T2DM), glomerular filtration rate (T1DM) and hemoglobin (T2DM). Obtained results demonstrate that levels of VEGF and Ang-2 (but not Ang-1) are raised in patients with diabetic kidney disease and associated with markers of renal damage and anemia. These data indicate the presence of the disturbance of angiogenic growth factors (VEGF, Ang-2) homeostasis and activity in diabetic patients with chronic kidney disease.*

**Key words:** angiopoietins, diabetes mellitus, diabetic kidney disease, vascular growth factor.

клубочковой фильтрации — СКФ) и показателем оксигенации тканей — гемоглобином крови (Hb).

### Пациенты и методы

#### Участники исследования

В исследование были включены 78 человек: 39 больных СД 1-го типа и 39 больных СД 2-го типа. Критериями наличия хронической болезни почек (ХБП) были: стойкая микроальбуминурия (МАУ)/протеинурия (ПУ) или при их отсутствии — снижение СКФ ниже 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> в течение последних 3 мес, согласно формуле MDRD [11]. ХБП классифицировалась по критериям National Kidney Foundation/ Kidney Disease Quality of Life (NKF/DOQI) [12]. Больные СД 1-го и СД 2-го типа были разделены на группы по наличию ХБП, почечной недостаточности (СКФ <60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>; 3–4-я стадии ХБП), степени выраженности альбуминурии (нормоальбуминурия — НАУ, а также МАУ и ПУ). Число больных в соответствующих группах указано в табл. 1–3.

#### Методы исследования

Анемию у больных без поражения почек диагностировали по критериям Всемирной организации здравоохранения: при Hb <130 г/л у мужчин и Hb <120 г/л у женщин; при наличии почечной патологии (по критериям, предложенными NKF/DOQI) — Hb <135 г/л у мужчин и Hb <120 г/л женщин [13, 14]. Клинико-лабораторная характеристика больных представлена в табл. 1. Определение Анг-1 и Анг-2 и 165-й изоформы СЭФР (СЭФР<sub>165</sub>) в сыворотке крови, взятой в утреннее время натощак, выполняли методом иммуноферментного анализа (ELISA) при помощи коммерческих наборов по описанной производителем инструкции («R&D Systems», Abingdon, ОХ, Великобритания, и «Biosource», Carlsbad, СА, США, соответственно). Для более четкого отражения взаимодействия изученных ангиопоэтинов, чем их индивидуальные значения в сыворотке, был рассчитан коэффициент Анг-2/Анг-1. Пациенты с СКФ менее 15 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> (5-я стадия ХБП) и лица, получавшие средства, стимулирующие эритропоэз, были исключены из исследования.

36

#### Статистическая обработка данных

Для статистической обработки данных рассчитывали среднее арифметическое значение (М) и стандартное отклонение (SD), достоверность различий оценивали с помощью теста Манна–Уитни. Оценку связей между исследуемыми показателями проводили с помощью непараметрического корреляционного анализа по Спирмену. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ ;  $0,05 \leq p < 0,1$  рассматривали как тенденцию к различию.

### Результаты

#### Сахарный диабет 1-го типа

У больных с ДН концентрация СЭФР<sub>165</sub> в сыворотке крови была практически в 2 раза выше, чем в группе без поражения почек (см. табл. 2). Уровень СЭФР<sub>165</sub> в сыворотке у больных с НАУ и МАУ достоверно не различался и был значимо больше при наличии ПУ по сравнению с НАУ (см. табл. 3). По всей группе больных СД 1-го типа имела место прямая ассоциация СЭФР<sub>165</sub> сыворотки и соотношения альбумин/креатинин мочи ( $r = 0,35$ ;  $p < 0,05$ ), как и у больных с ДН, но с сохраненной азотовыделительной функцией (СКФ  $\geq 60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) ( $r = 0,70$ ;  $p < 0,05$ ). Значение СЭФР<sub>165</sub> у пациентов с сохраненной фильтрационной функцией почек (СКФ  $\geq 60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>) и почечной недостаточностью достоверно не различалось ( $698,8 \pm 456,6$  и  $588,0 \pm 536,2$  пг/мл, соответственно;  $p = 0,3$ ). Корреляции между СЭФР<sub>165</sub> и СКФ установлению не было.

Концентрация Анг-1 в сыворотке не менялась в зависимости от наличия ДН, степени альбуминурии (см. табл. 2 и 3), отсутствия или развития почечной недостаточности ( $929,7 \pm 234,2$  и  $819,0 \pm 247,5$  пг/мл, соответственно;  $p = 0,3$ ). Также не было обнаружено связи между содержанием Анг-1 сыворотки, степенью альбуминурии и СКФ.

В группе больных с ДН наблюдали двукратный подъем концентрации Анг-2 и коэффициента Анг-2/Анг-1 в сыворотке по сравнению с больными без почечной патологии (см. табл. 2). Повышение Анг-2 и Анг-2/Анг-1 в сыворотке по мере усиления потери белка с мочой не было статистически значимым (см. табл. 3). При наступлении почечной недостаточности концентрация

Таблица 1. Клинико-лабораторные показатели обследованных больных

Показатели	Все больные (n=78)	Больные СД 1-го типа (n=39)	Больные СД 2-го типа (n=39)
Возраст, лет	47,6±16,5	35,4±11,2	59,9±10,9****
Длительность СД, лет	16,6±9,0	20,1±9,4	13,1±7,1****
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	27,0±6,0	22,9±3,8	31,1±4,8****
HbA <sub>1c</sub> , %	9,0±1,9	9,0±1,8	9,0±1,9
СКФ, мл/мин/1,73 м <sup>2</sup>	68,9±28,7	71,3±30,4	66,4±27,1
Гемоглобин, г/л	132,5±19,5	132,5±18,3	132,5±20,9
Анемия, n	25	14	11
Соотношение альбумин/креатинин мочи, мг/ммоль	73,8±174,1	47,1±108,2	100,5±219,6
НАУ/МАУ/ПУ (n)	41/15/22	21/7/11	20/8/11
Больные с ХБП и с СКФ $\geq 60$ мл/мин/1,73 м <sup>2</sup> /больные с ХБП и СКФ $< 60$ мл/мин/1,73 м <sup>2</sup> (n/n)	14/28	9/11	5/17

Примечание. Данные представлены в виде средних значений (М) и стандартного отклонения (SD). Достоверность различий показателей по критерию Манна–Уитни между больными с СД 1-го и СД 2-го типа: \*\*\*\*  $p < 0,001$ .

СД — сахарный диабет, ИМТ — индекс массы тела, МАУ — микроальбуминурия, НАУ — нормоальбуминурия, ПУ — протеинурия, СКФ — скорость клубочковой фильтрации, ХБП — хроническая болезнь почек, Hb — гемоглобин, HbA<sub>1c</sub> — гликированный гемоглобин, n — число больных.

**Таблица 2.** Концентрация циркулирующих ангиогенных факторов (СЭФР<sub>165</sub>, Анг-1 и Анг-2) у больных сахарным диабетом 1-го и 2-го типа с поражением почек и без почечной патологии

Показатели	Больные СД 1-го типа (n =39)		Больные СД 2-го типа (n =39)	
	ХБП (n =20)	Нет ХБП (n =19)	ХБП (n =22)	Нет ХБП (n =17)
СЭФР <sub>165</sub> , пг/мл	637,9±492,2**	376,5±165,4	563,5±406,6	495,8±333,4
Анг-1, пг/мл	868,8±241,9	934,3±251,2	657,3±253,3	758,1±347,6
Анг-2, пг/мл	813,5±618,9**	481,1±189,2	707,9±365,3**	487,8±260,2
Анг-2/Анг-1	1,0±0,8**	0,5±0,2	1,3±1,2*	0,8±0,6

*Примечание.* Данные представлены в виде средних значений (M) и стандартного отклонения (SD). Достоверность различий показателей по критерию Манна–Уитни между больными с ХБП и без ХБП: \*\*  $p < 0,05$ ; \*  $0,05 \leq p < 0,1$ .

СД — сахарный диабет, Анг-1 — ангиопэтин-1, Анг-2 — ангиопэтин-2, СЭФР<sub>165</sub> — сосудистый эндотелиальный фактор роста, ХБП — хроническая болезнь почек, n — число больных.

**Таблица 3.** Концентрация циркулирующих ангиогенных факторов (СЭФР<sub>165</sub>, Анг-1 и Анг-2) у больных сахарным диабетом 1-го и 2-го типа в зависимости от степени альбуминурии

Показатели	Больные СД 1-го типа (n =39)			Больные СД 2-го типа (n =39)		
	НАУ (n =21)	МАУ (n =7)	ПУ (n =11)	НАУ (n =20)	МАУ (n =8)	ПУ (n =11)
СЭФР <sub>165</sub> , пг/мл	390,6±180,2**	481,6±406,1	758,0±560,4	523,9±334,7	376,0±230,3	667,3±489,4
Анг-1, пг/мл	911,2±252,8	823,2±237,9	930,1±248,6	752,8±331,9	616,6±300,2	668,9±230,6
Анг-2, пг/мл	501,1±191,9	654,3±377,4	937,1±776,8	480,7±264,2***	542,3±203,9**	901,2±400,5
Анг-2/Анг-1	0,6±0,2	0,8±0,5	1,1±1,0	0,8±0,5***	1,2±1,1	1,6±1,5

*Примечание.* Данные представлены в виде средних значений (M) и стандартного отклонения (SD). Достоверность различий показателей по критерию Манна–Уитни по отношению к столбцу «ПУ»: \*\*\*  $p < 0,01$ ; \*\*  $p < 0,05$ .

СД — сахарный диабет, Анг-1 — ангиопэтин-1, Анг-2 — ангиопэтин-2, МАУ — микроальбуминурия, НАУ — нормоальбуминурия, ПУ — протеинурия, СЭФР<sub>165</sub> — сосудистый эндотелиальный фактор роста, n — число больных.

Анг-2 в сыворотке увеличивалась в 2 раза по сравнению со случаями сохраненной фильтрационной функции почек (1017,1±727,9 и 564,6±347,4 пг/мл, соответственно;  $p < 0,05$ ), как и значение Анг-2/Анг-1 (1,3±0,9 и 0,7±0,5, соответственно;  $p < 0,05$ ). У всех больных из группы СД 1-го типа была обнаружена прямая связь между уровнем Анг-2 и степенью альбуминурии ( $r = 0,36$ ;  $p < 0,05$ ) и обратная — между уровнем Анг-2 и СКФ ( $r = -0,38$ ;  $p < 0,05$ ), равно как и между коэффициентом Анг-2/Анг-1 и данными показателями (соотношение альбумин/креатинин мочи —  $r = 0,37$ ;  $p < 0,05$ ; СКФ —  $r = -0,48$ ;  $p < 0,01$ ). В группе больных с ДН сохранялась связь Анг-2/Анг-1 с СКФ ( $r = -0,49$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 1 А).

### Сахарный диабет 2-го типа

У больных СД 2-го типа развитие ХБП не влияло на уровень СЭФР<sub>165</sub> и Анг-1 в сыворотке (см. табл. 2). Наличие почечной недостаточности или ее отсутствие также не играло роли в изменении концентрации сывороточного СЭФР<sub>165</sub> (605,8±441,9 и 419,8±231,0 пг/мл, соответственно;  $p = 0,3$ ) и Анг-1 (703,1±240,9 и 501,3±256,0 пг/мл, соответственно;  $p = 0,2$ ). Значение СЭФР<sub>165</sub> и Анг-1 в сыворотке достоверно не различалось при нормальной и патологической экскреции альбумина с мочой (см. табл. 3). Однако у больных с НАУ (среди них 3 пациента с 3-й стадией ХБП) была установлена отрицательная связь СЭФР<sub>165</sub> и Анг-1 с альбуминурией ( $r = -0,66$ ;  $p < 0,01$  и  $r = -0,80$ ;  $p < 0,001$ , соответственно). У больных без ХБП также имелась обратная связь СЭФР<sub>165</sub> и Анг-1 с соотношением альбумин/креатинин мочи ( $r = -0,66$ ;  $p < 0,01$  и  $r = -0,77$ ;  $p < 0,001$ ).

У больных СД 2-го типа с ХБП, как и у пациентов с СД 1-го типа с ДН, уровень Анг-2 в сыворотке был существенно выше, чем при отсутствии поражения почек, хотя различия в коэффициентах Анг-2/Анг-1 между данными группами имели лишь тенденцию к достоверности

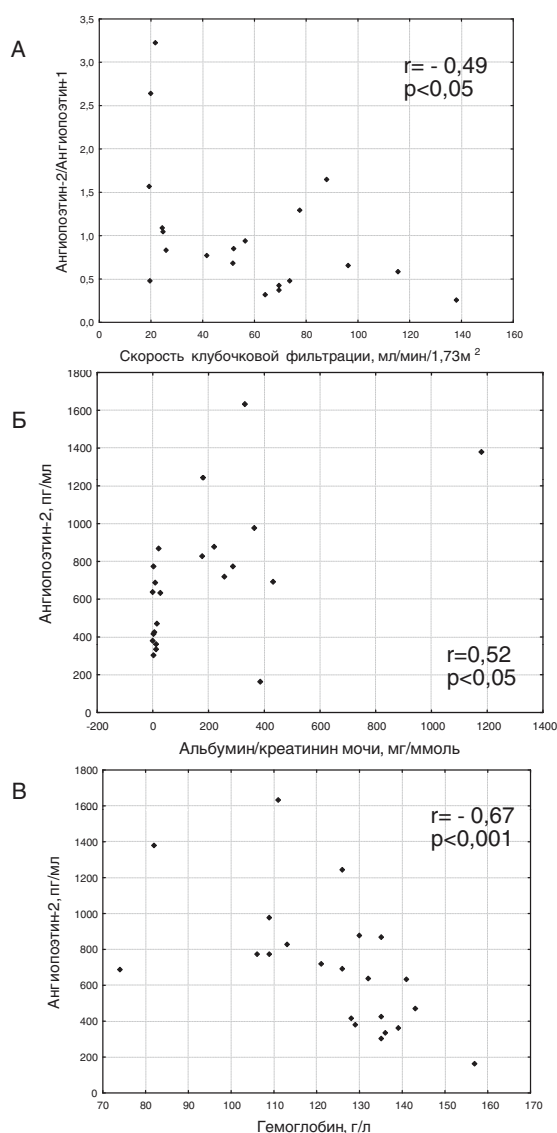
(см. табл. 2). Значение Анг-2 в сыворотке было достоверно выше у больных с ПУ по сравнению с пациентами с НАУ и МАУ, а коэффициент Анг-2/Анг-1 оказался выше у пациентов с ПУ, чем у лиц с НАУ (см. табл. 3). Анг-2 сыворотки и коэффициент Анг-2/Анг-1 тесно коррелировали с соотношением альбумин/креатинин мочи у всей группы обследованных ( $r = 0,42$ ;  $p < 0,01$  и  $r = 0,53$ ;  $p < 0,001$ , соответственно) и у пациентов с ХБП ( $r = 0,52$ ;  $p < 0,05$  — рис. 1 Б, и  $r = 0,51$ ;  $p < 0,05$ , соответственно).

Снижение фильтрационной функции почек не влияло на концентрацию Анг-2 в сыворотке в группе больных СД 2-го типа. Так, у больных СД 2-го типа с почечной недостаточностью и с сохраненной функцией почек содержание Анг-2 и соотношение Анг-2/Анг-1 не различались (734,6±404,8 и 617,2±178,2 пг/мл, соответственно;  $p = 0,7$  и 1,3±1,4 и 1,4±0,7, соответственно;  $p = 0,2$ ) и не было обнаружено их связи с СКФ у всей группы больных и у пациентов с поражением почек.

### Анемия

В группе пациентов с СД 1-го типа без анемии установили значимо более высокую концентрацию Анг-1 сыворотки (955,5,9±243,5 пг/мл) по сравнению с больными, имеющими анемию (802,9±225,1 пг/мл) ( $p < 0,05$ ). Показатель СЭФР<sub>165</sub> оставался неизменным в зависимости от наличия анемии, как и значение Анг-2, хотя коэффициент Анг-2/Анг-1 у больных с анемией был достоверно выше (1,1±0,8 и 0,6±0,3, соответственно;  $p < 0,05$ ).

У больных СД 2-го типа с анемией отмечали двукратное повышение Анг-2 в сыворотке (922,7±308,4 пг/мл) по сравнению с пациентами без анемии (489,5±266,6 пг/мл) ( $p < 0,001$ ), как и Анг-2/Анг-1 (1,8±1,6 и 0,9±0,6, соответственно;  $p < 0,05$ ). Значения Анг-1 и СЭФР<sub>165</sub> в сыворотке не зависели от снижения концентрации Hb крови, хотя у больных без ХБП имелась прямая связь между показателем Hb и содержанием Анг-1 в сыворотке ( $r = 0,60$ ;



**Рис. 1.** А. Корреляция между Анг-2/Анг-1 и СКФ у больных СД 1-го типа с диабетической нефропатией ( $n = 20$ ). Б. Корреляция между Анг-2 и соотношением альбумин/креатинин мочи у больных СД 2-го типа с хронической болезнью почек ( $n = 22$ ). В. Корреляция между Анг-2 и гемоглобином крови у больных СД 2-го типа с хронической болезнью почек ( $n = 22$ ).

*Примечание.* Анг-1 — ангиопозтин-1, Анг-2 — ангиопозтин-2, СД — сахарный диабет,  $n$  — число больных.

$p < 0,05$ ) и обратная — между Hb и коэффициентом Анг-2/Анг-1 ( $r = -0,68; p < 0,01$ ). Обнаружена также тесная отрицательная корреляция концентрации Анг-2 и коэффициента Анг-2/Анг-1 в сыворотке со значением Hb по всей группе больных СД 2-го типа ( $r = -0,62; p < 0,001$  и  $r = -0,63; p < 0,001$ , соответственно) и у больных СД 2-го типа с поражением почек ( $r = -0,67; p < 0,001$  — рис. 1 В, и  $r = -0,47; p < 0,05$ , соответственно).

**Взаимосвязь ангиогенных факторов**

Обратная корреляция между коэффициентом Анг-2/Анг-1 и значением Анг-1 в сыворотке крови имела у всех больных СД 1-го типа ( $r = -0,40; p < 0,05$ ) и у боль-

ных СД 1-го типа с ДН ( $r = -0,49; p < 0,05$ ). Аналогичную связь обнаружили у всех больных СД 2-го типа ( $r = -0,61; p < 0,001$ ). Имела место прямая связь СЭФР<sub>165</sub> с Анг-1 у всех больных из группы СД 2-го типа ( $r = 0,56; p < 0,001$ ) и у пациентов с СД 2-го типа с ХБП ( $r = 0,58; p < 0,01$ ), однако не было выявлено корреляции между концентрацией СЭФР<sub>165</sub> и Анг-2.

**Обсуждение**

В интактных почечных клубочках СЭФР экспрессируется подоцитами, а его тирозинкиназные рецепторы первого ряда (СЭФР<sub>R1</sub>-Flt-1 и СЭФР<sub>R2</sub>-KDR) — эндотелиальными и мезангиальными клетками клубочков [15, 16]. Принято считать, что СЭФР играет ключевую роль в формировании почечного клубочкового аппарата, сохранении фильтрационного барьера почек за счет пролиферации и дифференциации прилегающего эндотелия [17]. Следовательно, поддержание баланса продукции СЭФР подоцитами является чрезвычайно важным, особенно для гломерулярной сосудистой системы, которая чутко реагирует на любое изменение в экспрессии и активности СЭФР с дальнейшей морфофункциональной перестройкой фильтрационного барьера клубочка. При ДН патологическая альбуминурия сопровождается гиперпродукцией СЭФР в почках и развитием выраженной системной эндотелиальной дисфункции [18, 19]. Однако значение СЭФР в патогенезе ДН до сих пор остается не вполне ясным, хотя его ведущая роль в формировании и прогрессировании диабетической пролиферативной ретинопатии не вызывает сомнений [20, 21]. Предполагают, что патогенетическая роль СЭФР в поражении почек реализуется за счет стимуляции продукции коллагеназы и протеолитической деструкции эндотелия базальных мембран клубочков, что приводит к повышению проницаемости сосудистой стенки клубочков с развитием альбуминурии [22]. Установленное нами повышение содержания циркулирующего СЭФР<sub>165</sub>, имеющего особую активность в почечной ткани, у больных СД 1-го типа с ДН по сравнению с больными без почечной патологии, как и у пациентов с макроальбуминурией, при отсутствии различий его концентрации в сыворотке больных с НАУ и МАУ может указывать на активность патологического процесса в гломерулярном аппарате. Полученные результаты сопоставимы с данными других исследователей, которые изучали содержание СЭФР в плазме у больных СД 1-го и 2-го типа в зависимости от степени выраженности альбуминурии [18, 19]. В работе D.R. Cha и соавт. у больных СД 2-го типа с начальной стадией ДН был отмечен высокий уровень экспрессии СЭФР в клубочках. Однако при прогрессировании поражения почек зафиксировано не только снижение его продукции склерозированными гломерулами, но и дислокация образования СЭФР в сторону эпителиальных клеток проксимальных канальцев. Морфологические исследования на животных моделях СД убедительно продемонстрировали, что по мере прогрессирования диабетического поражения почек снижается интенсивность экспрессии СЭФР поврежденными подоцитами и эпителиальными клетками канальцев [23]. Клиническим отражением этих данных может послужить описанная нами прямая взаимосвязь между уровнем циркулирующего СЭФР<sub>165</sub> и степенью выраженности альбуминурии у больных СД 1-го типа именно с сохраненной функцией почек. Одинаковый уровень сывороточного СЭФР<sub>165</sub> при сохраненной и сниженной

филтративной функции почек и отсутствие его связи с СКФ у больных СД 1-го и 2-го типа в нашем исследовании может указывать на то, что повышение содержания СЭФР<sub>165</sub> в сыворотке не является показателем ухудшения азотовыделительной функции почек. Следовательно, можно утверждать, что на ранних стадиях нефропатии наблюдается повышение уровня экспрессии СЭФР<sub>165</sub> почками, которая снижается или «истощается» при формировании диабетического гломерулосклероза. Обращает на себя внимание выявленная нами у больных СД 2-го типа обратная связь между концентрацией СЭФР<sub>165</sub> и соотношением альбумин/креатинин мочи, но только в рамках НАУ. В связи с этим особый интерес представляют экспериментальные работы, указывающие, что именно СЭФР<sub>165</sub> обладает репаративными свойствами в отношении структуры гломерулярной мембраны при диабетическом и недиабетическом поражении почек [24–26].

Помимо СЭФР, другими важнейшими сосудистыми факторами роста, активно вовлеченными в процесс ангио-вазкулогенеза, роста и ремоделирования сосудов, считаются ангиопоэтины Анг-1 и Анг-2, являющиеся лигандами для второго ряда эндотелиальных тирозинкиназных рецепторов, в основном Tie-2 [27–29]. В экспериментальных исследованиях показали, что ангиопоэтины активно участвуют в созревании почечных сосудов [30–32]. Во взрослом состоянии Анг-1 продуцируется в клубочках подоцитами, в то время как в постнатальном периоде образование Анг-2 в клубочках резко снижается, иногда до неопределяемого значения [30, 33].

Анг-1 путем повышения стабильности и выживаемости эндотелиальных клеток стимулирует рост капилляров и ограничивает влияние СЭФР на проницаемость сосудов и тем самым обеспечивает поддержание целостности филтративного барьера почек [28–30, 34, 35]. У мышей со стрептозотоцин-индуцированным СД было показано, что экспрессия мРНК Анг-1 повышалась в клубочках на 4-й и 8-й нед заболевания с дальнейшим снижением с 12-й нед, что указывает на истощение его продукции почками при гипергликемии [10]. Однако в работах H.S. Lim и соавт. не было установлено влияния гипергликемии на уровень Анг-1 в сыворотке крови. Так, у больных СД 2-го типа и в контрольной группе без диабета значение Анг-1 достоверно не различалось [8, 9]. Кроме того, не было отмечено влияния на сывороточный уровень Анг-1 имеющихся у обследованных больных СД 2-го типа сердечно-сосудистых заболеваний (ишемия миокарда, инфаркт миокарда, инсульт, реваскуляризация коронарных или периферических артерий) [8]. В нашем исследовании при СД 1-го и 2-го типа концентрация Анг-1 в сыворотке не различалась в зависимости от наличия поражения почек, почечной недостаточности, СКФ, степени альбуминурии. Следует подчеркнуть, что обнаруженная обратная связь Анг-1 и альбуминурии в группе больных СД 2-го типа как с НАУ, так и без ХБП может быть некоторым отражением эффекта Анг-1, предупреждающего развитие патологической альбуминурии. О наличии ренопротективных свойств Анг-1 свидетельствует исследование с введением мышам с СД 2-го типа рекомбинантной формы Анг-1 — СОМР (cartilage oligomeric matrix protein)-Анг-1 [36]. При этом отмечалось снижение степени альбуминурии, выраженности экспансии мезангия, утолщения базальных мембран клубочков и отрыва ножек подоцитов. Кроме того, уменьшалось образование в почечной ткани фактора межклеточной адгезии-1, моноцитарного хемоаттрактантного белка-1, трансформирующего фактора роста  $\beta$ 1,  $\alpha$ -гладкомышечного

актина, фибронектина и инфильтрации моноцитами и макрофагами.

Анг-2, являющийся эндогенным антагонистом Анг-1, конкурентно ингибирует присоединение Анг-1 к рецептору Tie-2. Он вырабатывается в эндотелиальных клетках (в тельцах Вейбеля–Паладе) и высвобождается при активации эндотелия, гипергликемии, под действием фактора некроза опухолей  $\alpha$ , а особенно его продукция повышается при гипоксии. Анг-2 вызывает не только «пропотевание» сосудов, дестабилизацию их целостности с последующей регрессией при дефиците или отсутствии СЭФР, но и усиление миграции и пролиферации эндотелиальных клеток совместно с СЭФР [28–30, 37]. В настоящее время еще недостаточно данных о функциях Анг-2 в норме и при развитии патологии [30, 33].

В последнее время активно изучают влияние активации системы Анг-2/Tie-2 на прогрессирование ХБП. Ранее повышение продукции Анг-2 при одновременном снижении синтеза Анг-1 было показано на моделях животных с гломерулярными заболеваниями (анти-БМК-нефрит, поражение клубочков, вызванное даунорубицином и др.) [38, 39]. Недавно были опубликованы интересные результаты клинических исследований. Так, в исследовании P. Kumpers и соавт. продемонстрировано, что у больных АНЦА (антинейтрофильные цитоплазматические антитела)-ассоциированным васкулитом с поражением почек, характеризующимся тяжелейшим повреждением эндотелия мелких сосудов с их последующей деструкцией и некрозом, наблюдается 6-кратное повышение Анг-2 в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой здоровых добровольцев ( $6,1 \pm 3,5$  и  $1,0 \pm 0,7$  нг/мл, соответственно). Поскольку значение Анг-2 у больных с ремиссией заболевания ( $1,7 \pm 0,7$  нг/мл) и с «изолированным» гранулематозным поражением органов дыхания ( $1,7 \pm 1,1$  нг/мл) достоверно не отличалось от такового контрольной группы, высказывают предположение, что источником Анг-2 может быть пораженный почечный эндотелий [40]. В нашем исследовании значение Анг-2 было достоверно выше при наличии поражения почек у больных СД 1-го и 2-го типа. Зафиксированное повышение концентрации Анг-2 при ПУ у больных СД 2-го типа и ее прямая связь с выраженностью макроальбуминурии сопоставимы с результатами работы H.S. Lim и соавт., изучавших содержание циркулирующих ангиопоэтинов у больных СД 2-го типа [8]. S. Davis и соавт. были исследованы эффекты Анг-2 на почечную ткань у трансгенных мышей с повышенным уровнем экспрессии Анг-2 в подоцитах [41]. Они наблюдали апоптоз эндотелиальных клеток гломерул без признаков коллапса капилляров клубочка и «оголения» базальной мембраны, что клинически выражалось в усилении альбуминурии. Авторы подчеркивают, что эти патологические изменения могут быть следствием дестабилизации целостности эндотелиальных клеток клубочков, уменьшения количества нефрина с образованием дефекта щелевой диафрагмы без структурных изменений самих подоцитов.

В другом исследовании, включавшем больных ХБП недиабетического генеза, уровень Анг-2 значимо увеличивался по мере снижения филтративной функции почек (с  $1,0 \pm 0,6$  нг/мл на 1-й стадии ХБП до  $1,9 \pm 0,8$  нг/мл на 4-й стадии и достигал  $6,1 \pm 4,2$  нг/мл на 5-й стадии). При этом достоверное повышение концентрации Анг-2 впервые фиксировали только с 3-й стадии ХБП, т.е. при снижении СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, а тесная отрицательная корреляция Анг-2 с СКФ имелась в группе больных с СКФ не менее 15 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>,

что соответствует 1–4-й стадии ХБП [42]. Полученные нами результаты (двукратное повышение Анг-2 и коэффициента Анг-2/Анг-1 при снижении СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> и обратная связь с СКФ) подтверждают вышеупомянутые данные, но только в популяции больных СД 1-го типа.

Изучение гомеостаза ангиопоэтинов у больных после пересадки почки показало двукратное снижение повышенной концентрации Анг-2 в сыворотке и появление прежде отсутствовавшей у больных, находящихся на лечении диализом, отрицательной связи Анг-2 с СКФ [43]. В связи с тем, что Анг-2 не определяется в моче, т.е. он не подвергается клубочковой фильтрации и/или канальцевой секреции, авторы утверждают, что богатым источником гиперпродукции Анг-2, как и в случае с больными с АНЦА-ассоциированным васкулитом, является сам пораженный почечный эндотелий. Следовательно, можно утверждать, что циркулирующий уровень Анг-2 может являться маркером степени выраженности поражения почечного эндотелия. Наличие связи Анг-2 и коэффициента Анг2/Анг-1 с СКФ и невозможность почечной ретенции Анг-2 по мере снижения фильтрационной функции могут свидетельствовать о том, что Анг-2 допустимо рассматривать в качестве еще одного ключевого медиатора формирования нефросклероза при прогрессирующих гломерулярных заболеваниях почек.

В связи с тем, что гипоксия считается ведущим триггером экспрессии Анг-2 [44], обращает на себя внимание выявленное нами при анемии повышение коэффициента Анг-2/Анг-1 с одновременным снижением концентрации Анг-1 в сыворотке крови у больных СД 1-го типа, и значимое увеличение содержания циркулирующих Анг-2 и Анг-2/Анг-1 с наличием их прямой связи с Hb у пациентов с СД 2-го типа. Эти данные могут косвенно свидетельствовать об усилении экзцитоза эндотелиальных телец Вейбеля–Паладе в условиях гипоксии/анемии с высвобождением Анг-2.

Показателем антагонистических отношений Анг-1 и Анг-2 стало наличие у обследованных отрицательной связи коэффициента Анг-2/Анг-1 и Анг-1 в группах больных СД 1-го и 2-го типа и отдельно у больных СД 1-го типа с ДН. Сложные взаимоотношения СЭФР и ангиопоэтинов в сыворотке могут быть отражением их физиологического взаимодействия в различных патологических состояниях. В исследовании Н. Singh и соавт. было показано, что СЭФР активизирует рецепторы Tie-2 посредством механизма протеолитического распада другого тирозинкиназного рецептора — Tie-1, ведущего к трансфосфорилированию Tie-2, и тем самым к интегративному регулированию сигналов между двумя рецепторами [45]. В нашем исследовании у больных СД 2-го типа имелась прямая связь СЭФР<sub>165</sub> и Анг-1. Предполагается, что гиперпродукция СЭФР<sub>165</sub> может вызывать ответное образование Анг-1 для ослабления его эффекта. Так, в эксперименте на перицитах сетчатки крупного рогатого скота была зарегистрирована стимуляция образования мРНК Анг-1 под действием СЭФР [46]. Хотя в нашей работе не было обнаружено ассоциации между СЭФР и Анг-2, ранее в работе Н. S. Lim и соавт. была показана связь СЭФР и Анг-2 и их корреляция с индексами эндотелиальной дисфункции у больных СД 2-го типа [8]. Наличие данной связи, возможно, предполагает существование совместного, более агрессивного и неблагоприятного воздействия СЭФР и Анг-2 на эндотелий сосудов.

После получения неоднозначных результатов по применению ингибиторов СЭФР и анти-СЭФР-антител

в экспериментальных работах (повреждение эндотелиальных клеток и подоцитов, отложение комплекса СЭФР–анти-СЭФР-антитело, С<sub>3</sub>-компонента комплемента и др.) активно изучается эффективность других ангиогенных препаратов при ДН (ангиостатина, эндостатина и тумстатина) [23]. При их использовании в почечной ткани наблюдали уменьшение степени выраженности гипертрофии клубочков, экспансии мезангия, инфильтрации макрофагами, экспрессии СЭФР и трансформирующего фактора роста β, восстановление экспрессии нефрина, а также снижение гиперфильтрации, альбуминурии. Таким образом, продемонстрированная в различных исследованиях на животных моделях СД активация системы Анг-1–Анг-2/Tie-2 в почечной ткани и возможности воздействия на нее предполагают проведение дальнейших исследований [10, 30, 36, 47–50]. Недавно закончилась I фаза клинического испытания по оценке безопасности, фармакокинетики и противоопухолевой активности рекомбинантного Fc-пептидного антитела, действие которого направлено на связывание с Анг-1 и Анг-2 и препятствование их соединению с рецепторами Tie-2 у больных солидным раком, которое показало обнадеживающие результаты относительно эффективности изучаемого препарата [51].

## Заключение

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать следующие выводы.

- Повышение концентрации СЭФР<sub>165</sub> в сыворотке при ДН у больных СД 1-го типа сопряжено с нарушением проницаемости фильтрационного барьера почек (альбуминурией). Значение СЭФР<sub>165</sub> сыворотки не является маркером состояния азотовыделительной функции почек.
- У больных СД 1-го и 2-го типа с поражением почек уровень Анг-1 в сыворотке не зависит от значения альбуминурии, снижения фильтрационной функции почек, наличия анемии. Однако у больных СД 2-го типа повышение уровня Анг-1 в сыворотке при нормоальбуминурии или отсутствии поражения почек может быть связано с низким значением альбуминурии.
- Наличие диабетического поражения почек (у больных СД 1-го и 2-го типа), хронической почечной недостаточности (при СД 1-го типа), макроальбуминурии (при СД 2-го типа) и анемии (при СД 2-го типа) сопровождается значительным повышением содержания циркулирующего в сыворотке Анг-2. Повышение Анг-2 тесно коррелирует с усилением альбуминурии (СД 1-го и 2-го типа), снижением СКФ (СД 1-го типа) и Hb (СД 2-го типа), что может свидетельствовать о его роли маркера выраженности дисфункции эндотелия, повреждения почек и прогрессировании ХБП.
- Реципрокные взаимоотношения между содержанием в сыворотке Анг-2/Анг-1 и Анг-1 являются отражением их физиологического антагонизма в организме.
- В механизме прогрессирования диабетического поражения почек играет роль дисрегуляция образования и активности ангиогенных факторов роста (СЭФР<sub>165</sub> и Анг-2, Анг-1). Повышение уровня экспрессии Анг-2 при почечной патологии у больных СД предполагает проведение дальнейших исследований взаимосвязи патофизиологии почек и гомеостаза Анг-2 для определения будущих терапевтических подходов.

REFERENCES

1. Dedov I.I., Shestakova M.V. *Diabeticheskaya nefropatiya* [Diabetic nephropathy]. Moscow; Universum Publishing. 2000. 239 p.
2. Shestakova M.V., Dedov I.I. *Sakharnyi diabet i khronicheskaya bolezni' pochek* [Diabetes mellitus and chronic renal disease]. Moscow; MIA. 2009. 482 p.
3. Flyvbjerg A., Gronbaek, Bak M., Nielsen B., Christiansen T., Hill C., Logan A., Orskov H. Diabetic kidney disease: the role of growth factors. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1998; 13: 1104–1107.
4. Aiello L.P., Wong J.-S. Role of vascular endothelial growth factor in diabetic vascular complications. *Kidney Int.* 2000; 58 (Suppl. 77): 1427–1430.
5. Khamaisi M., Scrijvers B.F., Vriese A.S.D., Raz I., Flyvbjerg A. The emerging role of VEGF in diabetic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003; 18: 1104–1107.
6. Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2001; 280: 1358–1366.
7. Ferrara N., Gerber H.-P., LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat. Med.* 2003; 9 (6): 669–676.
8. Lim H.S., Blann A.D., Chong A.Y., Freestone B., Lip G.H. Plasma vascular endothelial growth factor, angiotensin-1, and angiotensin-2 in diabetes. *Diabetes Care.* 2004; 27 (12): 2918–2924.
9. Lim H.S., Lip G.Y.H., Blann A.D. Angiotensin-1 and angiotensin-2 in diabetes mellitus: relationship to VEGF, glycaemic control, endothelial damage/dysfunction and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2005; 180 (1): 113–118.
10. Yang Y.B., Chen Z.J., Liu F., Huang S.M. The expression and significance of the angiotensin-1 in the kidney of diabetic rats. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2007; 38 (1): 93–96.
11. Levey A.S., Bosch J.P., Lewis J.B., Greene T., Rogers N., Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: A new prediction equation. *Ann. Intern. Med.* 1999; 130: 461–470.
12. National Kidney Foundation: K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification. *Am. J. Kidney Dis.* 2002; 39 (Suppl. 1): 1–266.
13. World health organization. Nutritional Anemia: Report of WHO Scientific Group 1968. World Health Organization. Geneva.
14. National Kidney Foundation: K/DOQI clinical practice guidelines for the treatment of anemia of chronic kidney disease. Update 2000. *Am. J. Kidney Dis.* 2001; 37 (Suppl. 1): 182–238.
15. Simon M., Grone N.J., Johren H.J., Kullmer J., Plate K.H., Risau W., Fuchs E. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in human renal ontogenesis and in adult kidney. *Am. J. Physiol.* 1995; 268: 240–250.
16. Thomas S., Vanuytsel J., Gruden G., Rodriguez V., Burt D., Gnudi L., Hartley B., Viberti G. Vascular endothelial growth factor receptors in human mesangium *in vitro* and glomerular disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2000; 11: 1236–1243.
17. Eremina V., Cui S., Gerber H., Ferrara N., Haigh J., Nagy A., Ema M., Rossant J., Jothy S., Miner J.H., Quaggin S.E. Vascular endothelial growth factor for a signaling in the podocyte-endothelial compartment is required for a mesangial cell migration and survival. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006; 17: 724–735.
18. Cha D.R., Kim N.H., Yoon J.W., Jo S.K., Cho W.Y., Kim H.K., Won N.H. Role of vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2000; 58 (Suppl. 77): 104–112.
19. Hovind P., Tarnow L., Oestergaard P.B., Parving H.-H. Elevated vascular endothelial growth factor in type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2000; 57 (Suppl. 75): 56–61.
20. Cai J., Boulton M. The pathogenesis of diabetic retinopathy: old concepts and new questions. *Eye.* 2002; 16: 242–260.
21. Mohamed Q., Gillies M.C., Wong T.Y. Management of diabetic retinopathy. *Syst. Review. JAMA.* 2007; 298: 902–916.
22. Unemori E.N., Ferrara N., Bauer F.A., Amento E.P. Vascular endothelial growth factor induces interstitial collagenases expression in human endothelial cells. *J. Cell. Physiol.* 1992; 153: 557–562.
23. Nakagawa T., Kosugi T., Haneda M., Rivard C.J., Long D.A. Abnormal angiogenesis in diabetic nephropathy. *Diabetes.* 2009; 58: 1471–1478.
24. Bortoloso E., Del Prete D., Vestra M.D., Gambaro G., Saller A., Antonucci F., Baggio B., Anglani F., Fioretto P. Quantitative and qualitative changes in vascular endothelial growth factor gene expression in glomeruli of patients with type 2 diabetes. *Eur. J. Endocrin.* 2004; 150: 799–807.
25. Ostendorf T., Kunter U., Eitner F. et al. VEGF<sub>165</sub> mediates glomerular endothelial repair. *J. Clin. Invest.* 1999; 104 (7): 913–923.
26. Masuda Y., Shimizu A., Mori T., Ishiwata T., Kitamura H., Ohashi R., Ishizaki M., Asano G., Sugisaki Y., Yamanaka N. Vascular endothelial growth factor enhances glomerular capillary repair and accelerates resolution of experimentally induced glomerulonephritis. *Am. J. Pathol.* 2001; 159: 599–608.
27. Thomas M., Augustin H.G. The role of angiopoietins in vascular morphogenesis. *Angiogenesis.* 2009; 12: 125–137.
28. Thurston G. Role angiopoietins and Tie receptor tyrosine kinases in angiogenesis and lymphogenesis. *Cell Tissue Res.* 2003; 314: 61–68.
29. Feldman D.C., Blann A.D., Lip G.Y.H. Angiogenesis: basic pathophysiology and implication for disease. *Eur. Heart J.* 2003; 24: 586–603.
30. Woolf A., Gnudi L., Long D.A. Roles of angiopoietins in kidney development and disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009; 20: 239–244.
31. Suri C., Jones P.F., Patan S., Bartunkova S., Maisonpierre P.C., Davis S., Sato T.N., Yancopoulos G.D. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the TIE-2 receptor, during embryonic angiogenesis. *Cell.* 1996; 87: 1171–1180.
32. Pitera J.E., Woolf A.S., Gale N.W., Yancopoulos G.D., Yuan H.T. Dymorphogenesis of kidney cortical peritubular capillaries in angiopoietin-2 deficient mice. *Am. J. Pathol.* 2004; 165: 1895–1906.
33. Satchell S.C., Harper S.J., Tooke J.E., Kerjaschki D., Saleem M.A., Mathieson P.W. Human podocytes express angiopoietin-1, a potential regulator of glomerular vascular endothelial growth factor. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002; 13: 544–550.
34. Kim I., Kim H.G., So J.-N., Kim J.H., Kwak H.J., Koh G.Y. Angiotensin-1 regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signal transduction pathway. *Circ. Res.* 2000; 86: 24–29.
35. Thurston G., Rudge J.S., Ioffe E., Zhou H., Ross L., Croll S.D., Glazer N., Holash J., McDonald D.M., Yancopoulos G.D. Angiotensin-1 protects the adult vasculature against plasma leakage. *Nat. Med.* 2000; 6: 460–463.
36. Lee S., Kim W., Moon S.-O., Sung M.J., Kim D.K., Kang K.P., Jang K.Y., Lee S.Y., Park B.H., Koh G.Y., Park S.K. Renoprotective effect of COMP-angiopoietin-1 in db/db mice with type 2 diabetes. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2007; 22: 396–408.
37. Pfister F., Wang Y., Schreier K., von Hagen F., Altwater K., Hoffmann S., Deutsch U., Hammes H.-P., Feng Y. Retinal overexpression of angiopoietin-2 mimics diabetic retinopathy and enhances vascular damage in hyperglycemia. *Acta Diabetol.* 2010; 47: 59–64.
38. Yuan H.T., Tipping P.G., Li X.Z., Long D.A., Woolf A.S. Angiotensin correlates with glomerular capillary loss in anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis. *Kidney Int.* 2002; 61: 2078–2089.
39. Lu Y.H., Deng A.G., Li N., Song M.N., Yang X., Liu J.S. Changes in angiopoietin expression in glomeruli involved in glomerulosclerosis in rats with daunorubicin-induced nephrosis. *Acta Pharmacol. Sin.* 2006; 27: 579–587.
40. Kumper P., Hellpap J., David S., Horn R., Leitolf H., Haller H., Haubitz M. Circulating angiopoietin-2 is a marker and potential

- mediator of endothelial cell detachment in ANCA-associated vasculitis with renal involvement. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009; 24: 1845–1850.
41. Davis B., Cas A.D., Long D.A., White K.E., Hayward A., Ku C-H., Woolf A.S., Bilous R., Viberti G., Gnudi L. Podocyte-specific expression of angiotensin-2 causes proteinuria and apoptosis of glomerular endothelia. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007; 18: 2320–2329.
  42. David S., Kumper P., Lukasz A., Fliser D., Martens-Lobenhoffer J., Bode-Boger S.M., Kliem V., Haller H., Kielstein J.T. Circulating angiotensin-2 levels increase with progress of chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010; 25: 2571–2579.
  43. David S., Kumpers P., Hellpap J., Horn R., Leitolf H., Haller H., Kielstein T. Angiotensin 2 and cardiovascular disease in dialysis and kidney transplantation. *Am. J. Kidney Dis.* 2009; 53: 770–778.
  44. Fiedler U., Scharpfenecker M., Koidl S. et al. The Tie-2 ligand angiotensin-2 is stored in and rapidly released upon stimulation from endothelial cell Weibel-Palade bodies. *Blood.* 2004; 103: 4150–4156.
  45. Singh H., Milner C.S., Aguilar Hernandez M.M., Nicholas N.P., Brindle P.J. Vascular endothelial growth factor activates the Tie family of receptor tyrosine kinases. *Cell Signal.* 2009; 21: 1346–1350.
  46. Parka Y.S., Kimb N.H., Joa I. Hypoxia and vascular endothelial growth factor acutely up-regulate angiotensin-1 and Tie2 mRNA in bovine retinal pericytes. *Microvasc. Res.* 2003; 65: 125–131.
  47. Rizkalla B., Forbes J.M., Cao Z., Boner G., Cooper M.E. Temporal renal expression of angiogenic growth factors and their receptors in experimental diabetes: role of the renin-angiotensin system. *J. Hypertens.* 2005; 23: 153–164.
  48. Yamamoto Y., Maeshima Y., Kitayama H. Y., Kitamura S., Takazawa Y., Sugiyama H., Yamasaki Y., Makino H. Tumstatin peptide, an inhibitor of angiogenesis, prevents glomerular hypertrophy in the early stage of diabetic nephropathy. *Diabetes.* 2004; 53: 1831–1840.
  49. Ichinose K., Maeshima Y., Yamamoto Y., Kitayama H., Takazawa Y., Hirokoshi K., Sugiyama H., Yamasaki Y., Eguchi K., Makino H. Anti-angiogenic endostatin peptide ameliorates renal alterations in the early stage of type 1 diabetic nephropathy model. *Diabetes.* 2005; 54: 2891–2903.
  50. Ichinose K., Maeshima Y., Yamamoto Y., Kinomura M., Hirokoshi K., Kitayama H., Takazawa Y., Sugiyama H., Yamasaki Y., Agata N., Makino H. 2-(8-hydroxy-6-methoxy-1-oxo-1h-2-benzopyran-3-yl) propionic acid, an inhibitor of angiogenesis, ameliorates renal alterations in obese type 2 diabetic mice. *Diabetes.* 2006; 55: 1232–1242.
  51. Mita A.C., Takimoto C.H., Mita M., Tolcher A., Sankhala K., Sarantopoulos J., Valdivieso M., Wood L., Rasmussen E., Sun Y-N., Zhong Z.D., Bass M.B., Le N., LoRusso P. Phase I Study of AMG 386, a selective angiotensin  $1/2$ -neutralizing peptibody, in combination with chemotherapy in adults with advanced solid tumors. *Clin. Cancer Res.* 2010; 16 (11): 3044–3056.

FOR CORRESPONDENCE

**Shestakova Marina Vladimirovna**, RAMS cor. member, PhD, Professor, Director of Diabetes Institute, Endocrinology Research Center

**Address:** 117036, Moscow, Dmitriya Ul'yanova St., 11; **tel:** (499) 124-45-00; **e-mail:** nephro@endocrincentr.ru

**Martynov Sergei Andreevich**, PhD, Leading Research Worker, Endocrinology Research Center

**Address:** 117036, Moscow, Dmitriya Ul'yanova St., 11; **tel:** (495) 500-01-45; **e-mail:** smartynov@inbox.ru

**Kutyryna Irina Mikhailovna**, PhD, Professor, Leading Research Worker, Department of Nephrology Research Center, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University

**Address:** 119992, Moscow, Rossolimo St., 11/4, **tel.:** (499) 248-41-66; **e-mail:** nephro@endocrincentr.ru

**Ilin Aleksandr Viktorovich**, Head of the Laboratory of Clinical Biochemistry, Endocrinology Research Center

**Address:** 117036, Moscow, Dmitriya Ul'yanova St., 11; **tel:** (499) 126-76-00; **e-mail:** viktor.ilin2011@inbox.ru

**Arbuzova Margarita Ivanovna**, PhD, Leading Research Worker, Laboratory of Clinical Biochemistry, Endocrinology Research Center

**Address:** 117036, Moscow, Dmitriya Ul'yanova St., 11; **tel:** (499) 612-78-58; **e-mail:** margarita.arbuzova2010@inbox.ru

**Dedov Ivan Ivanovich**, RAS and RAMS academician, PhD, Professor, RAMS president, Director of Endocrinology Research Center

**Address:** 117036, Moscow, Dmitriya Ul'yanova St., 11; **tel:** (499) 124-43-00; **e-mail:** nephro@endocrincentr.ru