

Г.О. Леженко, О.Є. Пашкова, А.В. Каменщик, О.М. Чакмазова, Ю.Л. Славкін, В.О. Корольов, О.В. Глушкова, І.Н. Репинська

## ОЦІНКА РОЛІ ТРАНСФОРМУЮЧОГО ЧИННИКА РОСТУ БЕТА У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ, У ФОРМУВАННІ ДІАБЕТИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ

Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя

### ВСТУП

Діабетична нефропатія (ДН) — одне з найчастіших, тяжких та прогностично несприятливих ускладнень цукрового діабету. Останніми роками діабетична нефропатія зайняла лідируючі позиції серед причин термінальної ниркової недостатності в індустріально розвинених країнах. Як правило, раннє виявлення та тяжкий перебіг діабетичної нефропатії спостерігається за цукрового діабету 1-го типу, за якого клінічно виражене ураження нирок розвивається у 30-50% випадків. Незадовільні результати лікування діабетичної нефропатії пов'язано, насамперед, зі складністю патогенезу, тривалим періодом безсимптомного перебігу і, отже, пізньою діагностикою даного ускладнення [1].

Останніми роками встановлено, що у виникненні діабетичної нефропатії важливу роль відіграють чинники росту, гіперпродукція яких призводить до порушення балансу синтезу та розпаду компонентів базальної мембрани у бік посилення їх синтезу та диспропорції їх структурної організації. Стимулює підвищений синтез і накопичення у нирках цих чинників гіперглікемія, що ініціює різні механізми, у тому числі активацію рецепторів до глікованих білків [2-5].

Трансформуючий чинник росту бета-1 (ТЧР-β1) — найбільш вивчений багатофункціональний ростовий чинник — належить до протизапальних цитокінів. Мішенями ТЧР-β1 є різні клітини, які експресують його високоафінний рецептор. Серед ефектів ТЧР-β1 на імунну систему переважають пригнічувальні. ТЧР-β1 пригнічує гемопоез, синтез прозапальних цитокінів, відповідь лімфоцитів на ІЛ-2, ІЛ-4 та ІЛ-7, формування цитотоксичних Т- та НК-клітин. Водночас він посилює синтез білків міжклітинного матриксу, сприяє загоєнню ран, справляє анаболічну дію, стимулює ангиогенез. Надмірна активність ТЧР-β1 може призводити до гіперпроліферативних процесів (гломерулонефрит), склерозування шкіри, цирозу печінки, пухлинного росту тощо [6, 7]. Існує ціла низка досліджень, в яких показано взаємозв'язок між підвищенням

вмісту ТЧР-β1 та гіпертрофією лівого шлуночка у хворих на артеріальну гіпертензію [8-10].

У хворих на цукровий діабет підвищення ТЧР-β1 відбувається, зокрема, у мезангіальних та ендотеліальних клітинах клубочків нирок [11-13]. Деякі фахівці вважають, що ТЧР-β1 відіграє ключову роль у розвитку та прогресуванні діабетичної нефропатії [14-16]. В експерименті було показано, що пригнічення синтезу ТЧР-β1 приводить до попередження фіброзних змін у нирках [17], а застосування у лікуванні цукрового діабету поряд із належною гіпоглікемічною терапією препаратів, що нейтралізують дію ТЧР-β1 (наприклад, специфічних антитіл або специфічного уповільнювача даного цитокіну), попереджує або уповільнює темпи розвитку діабетичної нефропатії [15]. Проте більшість цих досліджень було проведено серед дорослих пацієнтів і стосувалось екскреції ТЧР-β1 із сечею. Водночас, у доступній літературі практично відсутні роботи, присвячені дослідженню рівня ТЧР-β1 у сироватці крові дітей, хворих на цукровий діабет.

Метою нашої роботи було дослідження рівня ТЧР-β1 у сироватці крові дітей, хворих на цукровий діабет, у динаміці, з урахуванням застосованої схеми інсулінотерапії, та визначення його ролі у формуванні діабетичної нефропатії.

### МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Для реалізації поставленої мети було обстежено 55 хворих на цукровий діабет дітей віком від 6 до 16 років, серед яких у 17 пацієнтів тривалість захворювання була до 1 року (1-а група), у 18 дітей — від 1 до 5 років (2-а група) та у 20 хворих "стаж" цукрового діабету склав понад 5 років (3-я група). На момент обстеження всі хворі перебували у стані компенсації. 20 здорових дітей увійшли до контрольної групи, репрезентативної за статтю та віком.

Рівень ТЧР-β1 у сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу з використанням комерційного набору DRG TGF-β1 Elisa (Німеччина).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведеного дослідження встановлено, що у дітей, хворих на цукровий діабет, відбуваються зміни вмісту ТЧР- $\beta$ 1 у сироватці крові. Цим пацієнтам притаманний більш високий рівень ТЧР- $\beta$ 1, концентрація якого перевищувала в 1,3 разу показники здорових дітей ( $519,24 \pm 23,5$  пг/мл проти  $383,05 \pm 47,12$  пг/мл відповідно,  $p < 0,05$ ). Аналіз даних виявив неоднорідність вмісту досліджуваного чинника залежно від низки показників. Так, порівняння результатів, отриманих у процесі обстеження дітей, хворих на цукровий діабет, із різною тривалістю захворювання виявило зростання вмісту ТЧР- $\beta$ 1 у сироватці крові зі збільшенням тривалості цукрового діабету.

Як видно з таблиці 1, у пацієнтів із тривалістю цукрового діабету до 1 року рівень ТЧР- $\beta$ 1 у сироватці крові не відрізнявся від такого у здорових дітей ( $p > 0,05$ ). Натомість починаючи з другого року захворювання відбувалося поступове збільшення вмісту ТЧР- $\beta$ 1 у сироватці крові ( $p < 0,05$ ). У групі хворих із тривалим перебігом цукрового діабету (понад 5 років) зафіксовано максимальне значення концентрації ТЧР- $\beta$ 1, рівень якого вірогідно відрізнявся не лише від аналогічного показника здорових дітей, але й від показників хворих із тривалістю хвороби до 1 року ( $p < 0,05$ ). Отримані результати виглядають логічно, якщо прийняти до уваги роботи багатьох дослідників [18, 19], де зазначено, що у більшості хворих на цукровий діабет через 5-7 років після виникнення захворювання формуються

мікроангіопатії внаслідок дифузного міжкапілярного склерозу, облітерації та інших уражень кровоносних судин.

За нашими даними, високі концентрації ТЧР- $\beta$ 1 у сироватці крові дітей, хворих на цукровий діабет, супроводжувалися потовщенням паренхіми нирок ( $r = +0,54$ ), зниженням швидкісних показників кровотоку в нирках ( $r = -0,39$ ), зменшенням діаметра судин нирок ( $r = -0,36$ ), підвищенням периферичного опору ( $r = +0,40$ ). Тобто підвищення секреції ТЧР- $\beta$ 1 у дітей, хворих на цукровий діабет, призвело до гіпертрофії нирок і ремоделювання ренальних судин. Проведений кореляційний аналіз виявив прямий кореляційний зв'язок вмісту ТЧР- $\beta$ 1 із мікроальбумінурією ( $r = +0,49$ ) та зворотний — зі швидкістю клубочкової фільтрації ( $r = -0,37$ ). Отже, отримані нами дані свідчать, що найбільші рівні ТЧР- $\beta$ 1 були притаманні хворим із проявами діабетичної нефропатії.

Наступним етапом нашої роботи був аналіз впливу різних схем інсулінотерапії на рівень ТЧР- $\beta$ 1. Було виділено 3 групи з урахуванням застосованих схем інсулінотерапії. До першої групи увійшли діти, які отримували НПХ-інсуліни; до другої — пацієнти, які лікувались аналогами людських інсулінів короткої та 24-годинної дії (інсуліни гларгін та аспарт); до третьої — хворі, яким було застосовано аналоги людських інсулінів короткої та 24-годинної дії (інсуліни гларгін і глюлізин). Середня тривалість цукрового діабету в групах склала від  $5,6 \pm 1,3$  до  $6,2 \pm 1,1$  року (табл. 2).

Таблиця 1

**Вміст трансформуючого чинника росту бета у плазмі крові дітей, хворих на цукровий діабет, у динаміці захворювання**

Показник	Тривалість цукрового діабету			Контрольна група, n=27
	до 1 року, n=20	1-5 років, n=18	понад 5 років, n=17	
ТЧР- $\beta$ 1, пг/мл	$466,11 \pm 34,08$	$538,20 \pm 46,84^*$	$582,31 \pm 39,85^*$	$383,05 \pm 47,12$

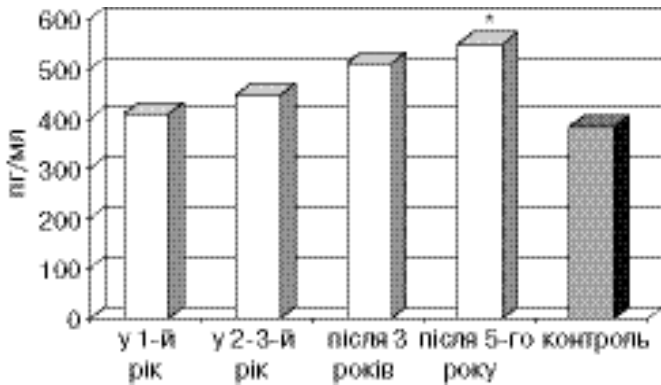
**Примітка:** ( ) \* —  $p < 0,05$  у порівнянні з показниками контрольної групи; \* ( ) —  $p < 0,05$  — у порівнянні з показниками групи хворих із тривалістю цукрового діабету до 1 року.

Таблиця 2

**Вміст трансформуючого чинника росту бета у плазмі крові дітей, хворих на цукровий діабет, залежно від застосованої схеми інсулінотерапії**

Показник	Схема інсулінотерапії			Контрольна група, n=27
	НПХ-інсуліни n=21	гларгін + аспарт n=17	гларгін + глюлізин n=17	
ТЧР- $\beta$ 1, пг/мл	$539,44 \pm 28,85^*$	$518,29 \pm 23,57^*$	$430,50 \pm 49,49$	$383,05 \pm 47,12$

**Примітка:** ( ) \* —  $p < 0,05$  у порівнянні з показниками контрольної групи; \* ( ) —  $p < 0,05$  — у порівнянні з показниками групи хворих, які отримували НПХ-інсуліни.



**Рис. Вміст ТЧР-β1 у сироватці крові дітей, хворих на цукровий діабет, залежно від терміну призначення інгібіторів АПФ.**

\* —  $p < 0,05$  порівняно з показниками контрольної групи.

Як свідчать наведені дані, у групі пацієнтів, які отримували НПХ-інсуліни, рівень ТЧР-β1 у сироватці крові значно перевищував показники контрольної групи:  $539,44 \pm 28,85$  пг/мл проти  $383,05 \pm 47,12$  пг/мл відповідно ( $p < 0,05$ ). Аналогічна тенденція спостерігалась і серед хворих, які отримували комбінацію інсулінів гларгін та аспарт. Слід зазначити, що використання у терапії дітей, хворих на цукровий діабет, комбінації інсулінів гларгін і глюлізин не призводило до підвищення секреції ТЧР-β1, показник якого практично не відрізнявся від значень контрольної групи. Необхідно підкреслити, що в даній групі пацієнтів зміни ренальної гемодинаміки також були мінімальними. Водночас у більшості хворих, які застосовували інші схеми інсулінотерапії, високий вміст ТЧР-β1 у сироватці крові супроводжувався значними порушеннями стану ниркової гемодинаміки. Наші попередні дослідження показали, що перші ознаки діабетичної нефропатії у дітей реєструються вже у дебюті захворювання та прогресивно зростають зі збільшенням тривалості захворювання [20, 21]. Відомо, що одним з основних чинників розвитку діабетичної нефропатії є внутрішньоклубочкова гіпертензія, проявом якої є гіперфільтрація. Основу її розвитку за цукрового діабету становить дисбаланс у регуляції тону капілярів, що приносять і виносять кров із ниркових клубочків. У свою чергу, основною причиною даного дисбалансу є висока активність ренін-ангіотензин-альдостеронової системи [22].

Раніше ми наголошували на необхідності раннього (ще до появи ознак мікроальбумінурії) застосування інгібіторів АПФ [21], захисний ефект яких полягає в зниженні внутрішньоклубочкового тиску та протеїнурії, а також внутрішньонирково-

го утворення ангіотензину II [23]. Іншою особливістю інгібіторів АПФ є гальмування деградації брадикініну, який є потужним стимулятором вивільнення ендотеліозалежних розслаблюючих чинників [24].

Беручи до уваги наші дані [20, 21], а також той факт, що метаболізм ТЧР-β1 тісно пов'язано з активністю ангіотензину II (АТ II), який через стимуляцію рецепторів до АТ II 1-го типу індукуює синтез матричної рибонуклеїнової кислоти ТЧР-β1 та експресію протеїнів у клітинних мембранах і фібробластах [25, 26, 27], ми проаналізували рівень ТЧР-β1 у сироватці крові дітей, хворих на цукровий діабет, з урахуванням терміну призначення інгібіторів АПФ.

Виходячи з даних, наведених на рисунку, найнижчі значення ТЧР-β1 у сироватці крові спостерігалися у хворих, яким інгібітори АПФ призначали у перші роки розвитку цукрового діабету, тобто перед появою клінічних проявів діабетичної нефропатії (підвищення рівня мікроальбумінурії). Відзначено, що рівень ТЧР-β1 у сироватці крові дітей даної групи статистично не відрізнявся від показника контрольної групи і склав  $410,23 \pm 39,41$  пг/мл. Аналогічні дані встановлено і у групі пацієнтів, які отримували інгібітори АПФ починаючи з 2-3-го року захворювання —  $448,34 \pm 41,29$  пг/мл. Водночас у групі дітей, яким інгібітори АПФ було застосовано після 3-го року захворювання, рівень ТЧР-β1 у сироватці крові значно перевищував його значення у здорових дітей і склав  $511,25 \pm 25,30$  пг/мл проти  $383,05 \pm 47,12$  пг/мл у контрольній групі ( $p < 0,05$ ). У пацієнтів, де призначення інгібіторів АПФ здійснювали після 5-го року від початку діабету, рівень ТЧР-β1 у сироватці крові значно перевищував показники контрольної групи ( $547,32 \pm 39,29$  пг/мл).

## ВИСНОВКИ

1. Структурно-функціональні зміни у нирках дітей, хворих на цукровий діабет, відбуваються на тлі значного зростання вмісту ТЧР-β1 у сироватці крові.

2. Використання комбінації аналогів людських інсулінів гларгін і глюлізин у дітей, хворих на цукровий діабет, сприяє нормалізації секреції ТЧР-β1 та уповільненню темпів формування діабетичної нефропатії.

3. Раннє, з першого року захворювання, включення до терапії дітей із цукровим діабетом інгібіторів АПФ приводить до зниження ризику розвитку діабетичної нефропатії внаслідок блокування гіперпродукції ТЧР-β1.

4. Рівень ТЧР-β1 у сироватці крові може бути ви-

користано як маркер формування діабетичної нефропатії у дітей.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Климонта В.В. Особенности формирования и ранняя диагностика поражения почек у больных сахарным диабетом 1-го типа. — Автореф. ... д.мед.н. — Новосибирск, 2008. — 40 с.
2. Sheetz MJ, King GL. Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications // *Jama*. — 2002. — Vol. 288. — P. 2579-2588.
3. Flyvbjerg A. Putative pathophysiological role of growth factors and cytokines in experimental diabetic kidney disease. // *Diabetologia*. — 2000. — Vol. 43. — P. 1205-1223.
4. Gupta S, Clarkson MR, Duggan J, Brady HR. Connective tissue growth factor: potential role in glomerulosclerosis and tubulointerstitial fibrosis // *Kidney Int*. — 2000. — Vol. 58. — P. 1389-1399.
5. Сергієнко О.О., Ефімов А.С. Діабетичні нейропатії: сучасний погляд на проблему (огляд літератури та власних досліджень) // Журнал академії медичних наук України. — 2002. — Т. 8. — С. 487-506.
6. Role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis of rheumatoid arthritis / Nagashima M., Yoshino S., Ishiwata T. et al. // *J. Rheumatol*. — 1995. — Vol. 22. — P.1624-1630
7. Яцишин Р.И. Роль факторів росту в патогенезі системної склеродермії // Український ревматологічний журнал. — 2002. — №2. — С. 59-62.
8. Laviades C., Varo N., Diez J. Transforming growth factor beta in hypertensives with cardiorenal damage // *Hypertension*. — 2000. — Vol. 36(4). — P. 517-522.
9. Rosenkranz S. TGF-beta1 and angiotensin networking in cardiac remodeling // *Cardiovasc. Res*. — 2004. — Vol. 63(3). — P. 423-432.
10. Белая Н.В. Роль трансформирующего фактора роста-β1 и тканевого ингибитора металлопротеиназ-1 в формировании структурных изменений миокарда при артериальной гипертензии // *Лаборат. диагностика*. — 2005. — №3. — С. 9-12.
11. Hoffman BB, Sharma K, Zhu Y, Ziyadeh FN. Transcriptional activation of transforming growth factor-beta1 in mesangial cell culture by high glucose concentration // *Kidney Int*. — 1998. — Vol. 54. — P. 1107-1116.
12. Tsilibary EC. Microvascular basement membranes in diabetes mellitus // *J Pathol*. — 2003. — Vol. 200. — P. 537-546.
13. Glycated albumin stimulates TGF-beta 1 production and protein kinase C activity in glomerular endothelial cells / Chen S, Cohen MP, Lautenslager GT, et al. // *Kidney Int*. — 2001. — Vol. 59. — P. 673-681.
14. Urinary transforming growth factor-beta1 and alpha1-microglobulin in children and adolescents with type 1 diabetes. /Korpinen E, Teppo AM, Hukkanen L, et al. // *Diabetes Care*. — 2000. — Vol. 23(5). — P. 664-668.
15. Increased secretion of TGF-beta1 by peripheral blood mononuclear cells from patients with Type 1 diabetes mellitus with diabetic nephropathy / Korpinen E, Groop PH, Fagerudd JA, et al. // *Diabet Med*. — 2001. — Vol18(2). — P. 121-125.
16. Metwally S.S., Mosaad Y.M., Nassr A.A., Zaki O.M. Transforming growth factor-beta 1 in diabetic nephropathy // *Egypt J Immunol*. — 2005. — Vol. 12(1). — P. 103-112
17. Sharma K, Jin Y, Guo J, Ziyadeh FN. Neutralization of TGF-beta by anti-TGF-beta antibody attenuates kidney hypertrophy and the enhanced extracellular matrix gene expression in STZ-induced diabetic mice // *Diabetes* 1996. — Vol. 45. — P. 522-530.
18. Дедов И.И., Шестакова М.В. Сахарный диабет. М.: Универсум Паблишинг, 2003.
19. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М. Микроангиопатия — одно из сосудистых осложнений сахарного диабета // *Consilium Medicum*. — 2000. — №5.
20. Формування діабетичної нефропатії у дітей, хворих на цукровий діабет типу 1, у динаміці захворювання / Леженко Г.О., Пашкова О.Є., Руднева І.В., Чакмазова О.М. та інші // Міжнародний ендокринологічний журнал. — 2007. — №2. — С. 80-81.
21. Леженко Г.О., Пашкова О.Є., Чакмазова О.М. Особливості формування, клініки та терапії діабетичної нефропатії у дітей, хворих на цукровий діабет I типу (сучасні погляди на стан проблеми) // Інноваційні технології в сучасній ендокринології. — Науково-практична конференція. — Харків, 2008. — С. 60-67.
22. Березняков А.Г., Жадан А.В. Перспективы использования препарата Диротон у больных артериальной гипертензией и сахарным диабетом 2 типа с микроальбуминурией // *Здоровье Украины*. — 2003. — №72.
23. Мухин Н.А. Современная нефропротективная стратегия лечения хронических прогрессирующих заболеваний почек // *Клиническая фармакология*. — 2002. — № 11 (2). — С. 58-62.
24. Hemodynamic effects of bradykinin on systemic and pulmonary circulation in healthy and hypertensive humans. /Bonner G., Preis S., Schunck U. et al. // *J Cardiovasc Pharmacol*. — 1990. — Vol. 15, Suppl. 6. — P. 46-56.
25. In vivo evidence of the importance of cardiac angiotensin-converting enzyme in the pathogenesis of cardiac hypertrophy. *Arterioscler /Higaki J., Aoki M., Morishita R. et al. // Thromb. Vasc. Biol*. — 2000. — Vol. 20(2). — P. 428-434.
26. Manabe I., Shindo T., Nagai R. Gene expression in fibroblasts and fibrosis: involvement in cardiac hypertrophy // *Circ. Res*. — 2002. — Vol. 91 (12). — P. 1103-1113.
27. Leask A. TGFbeta, cardiac fibroblasts, and the fibrotic response // *Cardiovasc. Res*. — 2007. — Vol. 74(2). — P. 207-212.

## РЕЗЮМЕ

**Оценка роли трансформирующего фактора роста бета у детей с сахарным диабетом в формировании диабетической нефропатии**  
**Г.А. Леженко, Е.Е. Пашкова, А.В. Каменщик, Е.Н. Чакмазова, Ю.Л. Славкин**

В работе проведено исследование уровня ТЧР-β1 в сыворотке крови детей, больных сахарным диабетом. Установлено, что уровень ТЧР-β1 повышался при увеличении "стажа" заболевания и зависел от используемой схемы инсулинотерапии. Выявленные изменения происходили на фоне нарушения морфо-функционального состояния почек.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, диабетическая нефропатия, трансформирующий фактор роста бета.

## SUMMARY

**The estimation of role of transforming growth factor-beta 1 in children with diabetes in diabetic nephropathy formation**  
**G. Lezhenko, E. Pashkova, A. Kamenshik, E. Chakmazova, U. Slavkin**

The level of transforming growth factor-beta 1 in children with diabetes mellitus was investigated. It is revealed that the level of transforming growth factor-beta 1 for patients with diabetes was increased in respect to duration of disease and depended on the insulintherapy. Data shown that these changes occurred together with a morphofunctional abnormalities of kidneys.

**Key words:** diabetes mellitus, diabetic nephropathy, natriuretic peptide, transforming growth factor beta.

*Дата надходження до редакції 13.02.2009 р.*