

ОЦІНКА РОЛІ ТРАНСФОРМУЮЧОГО ФАКТОРУ РОСТУ-БЕТА У ФОРМУВАННІ ДІАБЕТИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

Леженко Г. О., Пашкова О. Є., Каменщик А. В., Чакмазова О. М., Славкін Ю. Л.

Запорізький державний медичний університет

Діабетична нефропатія (ДН) — одне з найбільш частих, важких і прогностично несприятливих ускладнень цукрового діабету (ЦД). Останніми роками діабетична нефропатія зайняла провідні позиції серед причин термінальної ниркової недостатності в індустріально розвинених країнах. Як правило, раннє виявлення та важкий перебіг діабетичної нефропатії спостерігається при цукровому діабеті 1 типу, при якому клінічно виражене ураження нирок розвивається у 30–50 % хворих. При цьому незадовільні результати лікування діабетичної нефропатії пов'язані, вперш за все, зі складністю патогенезу, тривалим безсимптомним перебігом та пізньою діагностикою даного ускладнення [1].

В останні роки встановлено, що у виникненні діабетичної нефропатії важливу роль відіграють фактори росту, гіперпродукція яких призводить до порушення між синтезом та розпадом компонентів базальної мембрани в бік посилення синтезу та диспропорції компонентів базальних мембран та їх структурної організації. Стимулює підвищений синтез та накопичення в нирках цих факторів гіперглікемія, яка ініціює різні механізми, в тому числі активацію рецепторів до глікозилізованих білків [2–5].

Трансформуючий фактор росту бета-1 (ТФР- β 1) — найбільш вивчений поліфункціональний ростовий фактор, який нале-

жить до переважно протизапальних цитокінів. Мішенями ТФР- β 1 є різні клітини, оскільки експресія його високоафінного рецептору широко розповсюджена. При дії ТФР- β 1 на імунну систему переважають ефекти, що інгібують. ТФР- β 1 пригнічує гемопоез, синтез запальних цитокінів, відповідь лімфоцитів на ІЛ-2, -4 та -7, формування цитотоксичних НК- та Т-клітин. В той же час він посилює синтез білків міжклітинного матриксу, сприяє загоюванню ран, здійснює анаболічну дію, стимулює ангиогенез. Надлишкова активність ТФР- β 1 може призводити до гіперпроліферативних процесів, таких як гломерулонефрит, склерозування шкіри, цироз печінки, програмуючий пухлинний рост, тощо [6, 7]. Існує ціла низка досліджень, в яких показано взаємозв'язок між підвищенням ТФР- β 1 та гіпертрофією лівого шлуночку хворих на артеріальну гіпертензію [8–10].

У хворих на цукровий діабет підвищення ТФР- β 1 відбувається в мезангіальних та ендотеліальних клітинах клубочків нирок. [11–13]. За даними E. Korpinen et al. [14, 15] та S.S. Metwally et al. [16], ТФР- β 1 відіграє ключову роль у розвитку та прогресуванні діабетичної нефропатії. В експерименті було показано, що пригнічення синтезу ТФР- β 1 призводить до попередження фіброзних змін у нирках [17], а застосування у лікуванні цукрового діабету

бету, поряд з належним глікемічним контролем, препаратів, які нейтралізують дію ТФР- β 1 (наприклад, специфічних антитіл або специфічного уповільнювача даного цитокіну) попереджує або уповільнює темпи розвитку діабетичної нефропатії [15]. Проте більшість цих досліджень були виконані у дорослих пацієнтів та стосувалися екскреції ТФР- β з сечею. В той же час, в доступній

літературі практично відсутні роботи, присвячені дослідженню рівня ТФР- β 1 в сироватці крові у дітей, хворих на ЦД.

Метою нашої роботи було дослідження рівня ТФР- β 1 в сироватці крові у дітей, хворих на цукровий діабет, в динаміці захворювання та з урахуванням застосованої схеми інсулінотерапії та визначення його ролі у формуванні діабетичної нефропатії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для досягнення поставленої мети було обстежено 55 дітей, хворих на ЦД, віком від 6 до 16 років, серед яких у 17 пацієнтів тривалість захворювання була до одного року (1 група), у 18 дітей — від 1 до 5 років (2 група) та у 20 хворих — понад 5 років (3 група). На момент обстеження всі хворі перебували в стані компенсації. До контрольної групи увійшли 20 здорових дітей репрезентативних за статтю та віком.

Рівень трансформуючого фактору росту бета в сироватці крові визначався методом імуноферментного аналізу з використанням комерційного набору DRG TGF- β 1 Elisa (Німеччина).

Наступним етапом нашої роботи був аналіз впливу різних схем інсулінотерапії на рівень ТФР- β 1. Нами було виділено три групи з урахуванням застосованих схем інсулінотерапії, тобто до першої групи увійшли діти, що отримували НПХ-інсуліни; до другої — пацієнти, які одержували аналог людських інсулінів короткої та 24-годинної дії (інсуліни гларгін та аспарт); до третьої — хворі, яким було застосовано аналог людських інсулінів короткої та 24-годинної дії (інсулін гларгін та глюлізін). Середня тривалість ЦД в групах склала від $5,6 \pm 1,3$ років до $6,2 \pm 1,1$ років.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В результаті проведеного дослідження було встановлено, що у дітей, хворих на ЦД, відбуваються зміни вмісту ТФР- β 1 в сироватці крові. Встановлено, що означеній групі дітей притаманний більш високий рівень ТФР- β , концентрація якого була в 1,3 рази вищою порівняно до показника здорових дітей ($519,24 \pm 23,5$ проти $383,05 \pm 47,12$ пг/мл, відповідно, $p < 0,05$). Встановлено неоднорідність вмісту досліджуваного показника в залежності від низки факторів. Так, при співставленні результатів, отриманих в процесі дослідження дітей, хворих на цукровий діабет з різною тривалістю захворювання, виявлено зростання вмісту ТФР- β 1 в сироватці крові зі збільшенням тривалості ЦД.

Як видно з табл. 1, у пацієнтів з перебігом ЦД до одного року рівень ТФР- β 1 в сироватці крові знаходився в межах

показників, притаманних здоровим дітям ($p > 0,05$). Однак, починаючи з другого року захворювання відбувалося поступове збільшення вмісту ТФР- β в сироватці крові ($p < 0,05$). У групі хворих з перебігом цукрового діабету понад 5 років нами відмічено максимальне значення концентрації ТФР- β , рівень якого достовірно відрізнявся не тільки від аналогічного показника у здорових дітей, але й від показників хворих з тривалістю хвороби до одного року ($p < 0,05$). Отримані дані виглядають логічно, якщо прийняти до уваги результати роботи інших дослідників [18, 19], де зазначено, що у більшості хворих на ЦД через 5–7 років після виникнення захворювання формуються мікроангіопатії внаслідок дифузного міжкапілярного склерозу, облітерації та інших уражень кровоносних судин.

Таблиця 1

Вміст трансформуючого фактору росту-бета в плазмі крові дітей, хворих на цукровий діабет, в 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)	
ТФР- β 1, пг/мл	466,11 \pm 34,08	538,20 \pm 46,84*	*582,31 \pm 39,85*	383,05 \pm 47,12

Примітка. (*) – $p < 0,05$ – порівняно з показником контрольної групи;

*() – $p < 0,05$ – порівняно з показниками групи хворих з тривалістю ЦД до одного року.

Таблиця 2

Вміст трансформуючого фактору росту бета в плазмі крові дітей, хворих на цукровий діабет, в залежності від застосованої схеми інсулінотерапії

Показник	Інсулінотерапія			Контрольна група (n = 27)
	НПХ-інсуліни (n = 21)	Гларгін+аспарт (n = 17)	Гларгін+глюлізін (n = 17)	
ТФР- β 1, пг/мл	539,44 \pm 28,85*	518,29 \pm 23,57*	*430,50 \pm 49,49	383,05 \pm 47,12

Примітка. (*) – $p < 0,05$ – в порівнянні з показниками контрольної групи;

*() – $p < 0,05$ – в порівнянні з показниками групи хворих, які отримували НПХ-інсуліни.

За нашими даними, високі концентрації ТФР- β в сироватці крові дітей, хворих на ЦД, супроводжувалися потовщенням паренхіми нирок ($r = +0,54$), зниженням швидкосних показників кровотоку в нирках ($r = -0,39$), зменшенням діаметру судин нирок ($r = -0,36$), підвищенням периферичного опору ($r = +0,40$). Тобто підвищення секреції ТФР- β 1 у дітей, хворих на ЦД, призводило до гіпертрофії нирок та ремоделювання ренальних судин. Проведений кореляційний аналіз показав наявність прямого кореляційного зв'язку вмісту ТФР- β 1 з мікроальбумінурією ($r = +0,49$) та зворотного – зі швидкістю клубочкової фільтрації ($r = -0,37$). Таким чином, отримані нами данні свідчили, що найбільш високі рівні ТФР- β 1 були притаманні хворим з проявами діабетичної нефропатії.

Як свідчать дані таблиці 2, в групі пацієнтів, що отримували НПХ-інсуліни, рівень ТФР- β 1 в сироватці крові значно перевищував показники контрольної групи.

Аналогічна тенденція спостерігалася і серед хворих, які отримували комбінацію інсулінів гларгін та аспарт. Слід зазначити, що використання в терапії дітей, хворих на ЦД, комбінації інсулінів гларгін та

глюлізін, не призводило до підвищення секреції ТФР- β 1, рівень якого практично не відрізнявся від значень контрольної групи. Необхідно підкреслити, що в даній групі пацієнтів зміни ренальної гемодинаміки також були мінімальними, і в той же час у більшості хворих, які застосовували інші схеми інсулінотерапії, високий вміст ТФР- β 1 в сироватці крові супроводжувався значними порушеннями стану ниркової гемодинаміки. Наші попередні дослідження [20, 21] показали, що перші ознаки діабетичної нефропатії у дітей реєструється вже в дебюті захворювання та прогресивно зростають при збільшенні тривалості захворювання. Відомо, що одним з основних факторів розвитку діабетичної нефропатії є внутрішньоклубочкова гіпертензія, проявом якої є гіперфільтрація, основу розвитку якої становить дисбаланс в регуляції тонуусу артерійол, що приносять і виносять кров з ниркових клубочків при ЦД. В свою чергу, основною причиною даного дисбалансу є висока активність ренін-ангіотензін-альдостеронової системи [22].

Раніше ми наголошували на необхідності раннього (до появи ознак мікроальбумінурії) застосування інгібіторів АПФ [21], захисний ефект яких полягає в зниженні

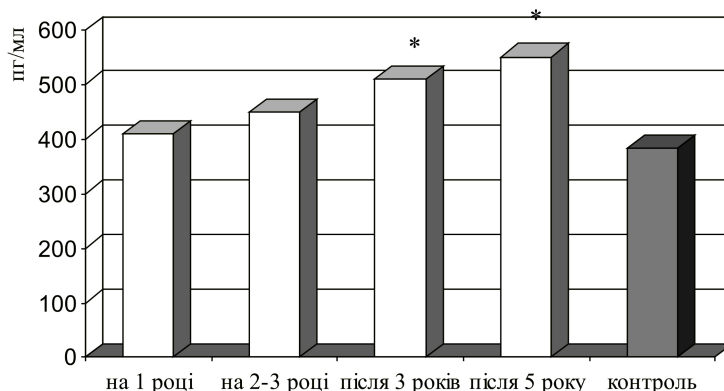


Рис. Вміст ТФР-β1 в сироватці крові дітей, хворих на ЦД, в залежності від терміну призначення інгібіторів АПФ (* – $p < 0,05$ – в порівнянні з показниками контрольної групи).

внутрішньоклубочкового тиску та протеїнурії, а також внутрішньониркового утворення ангіотензину II [23]. Іншою особливістю інгібіторів АПФ є гальмування деградації брадикініну, який є потужним стимулятором звільнення ендотелійзалежних розслаблюючих факторів [24].

Приймаючи до уваги наші дані [20, 21], а також відомості про те, що метаболізм ТФР-β1 тісно пов'язаний з активністю ангіотензину II (АТ II), який через стимуляцію рецепторів до АТ II 1 типу індукуює синтез матричної рибонуклеїнової кислоти ТФР-β1 та експресію протеїнів в клітинних мембранах та фібробластах [25–27], ми проаналізували рівень ТФР-β1 в сироватці крові у дітей, хворих на ЦД, з урахуванням терміну захворювання, коли були призначені інгібітори АПФ.

Виходячи з даних, представлених на рисунку, найнижчі значення ТФР-β1 в сироватці крові спостерігалися у хворих, яким інгібітори АПФ було застосовано в перші ро-

ки захворювання на ЦД, тобто до клінічних проявів діабетичної нефропатії (підвищення рівня мікроальбумінурії). Відмічено, що рівень ТФР-β1 в сироватці крові дітей даної групи статистично не відрізнявся від показника контрольної групи. Аналогічні дані встановлено і в групі пацієнтів, що отримували інгібітори АПФ з другого-третього року захворювання, вміст ТФР-β у яких склав $448,34 \pm 41,29$ пг/мл. В той же час, в групі дітей, яким інгібітори АПФ було застосовано після третього року захворювання рівень ТФР-β1 в сироватці крові значно перевищував цей показник у здорових дітей і склав $511,25 \pm 25,30$ проти $383,05 \pm 47,12$ пг/мл в контрольній групі ($p < 0,05$). В групі пацієнтів, де призначення інгібіторів АПФ відбувалося після 5 року захворювання, рівень ТФР-β1 в сироватці крові не тільки значно перевищував показники контрольної групи ($547,32 \pm 39,29$ пг/мл), але й не приводило до зниження вмісту даного гормону в сироватці крові хворих.

ВИСНОВКИ

1. Структурно-функціональні зміни в нирках дітей, хворих на цукровий діабет, відбуваються на тлі значного зростання рівня секреції ТФР-β1 в сироватці крові.
2. Використання комбінації аналогів людських інсулінів гларгін і глюлізін у дітей, хворих на цукровий діабет, сприяє нормалізації секреції ТФР-β1 і уповільнює темпи формування діабетичної нефропатії.

3. Раннє, з першого року захворювання включення в терапію дітей з цукровим діабетом інгібіторів АПФ призводить до зниження ризику розвитку діабетичної нефропатії внаслідок блокування гіперпродукції ТФР-β1.

4. Визначення рівня ТФР-β1 в сироватці крові може бути використано як маркер формування діабетичної нефропатії у дітей.

ЛІТЕРАТУРА

1. Климмонтов В. В. Особенности формирования и ранняя диагностика поражения почек у больных сахарным диабетом 1-го типа. — Автореф. . . . докт. мед. наук. — Новосибирск, 2008. — 40 с.
2. Sheetz M. J. Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications [Text] / M. J. Sheetz, G. L. King // *Jama*. — 2002. — Vol. 288. — P. 2579–2588.
3. Flyvbjerg A. Putative pathophysiological role of growth factors and cytokines in experimental diabetic kidney disease [Text] / A. Flyvbjerg // *Diabetologia*. — 2000. — Vol. 43. — P. 1205–1223.
4. Connective tissue growth factor: potential role in glomerulosclerosis and tubulointerstitial fibrosis [Text] / S. Gupta, M. R. Clarkson, J. Duggan, H. R. Brady // *Kidney Int*. — 2000. — Vol. 58. — P. 1389–1399.
5. Сергієнко О. О. Діабетичні нейропатії: сучасний погляд на проблему (огляд літератури та власних досліджень) [Текст] / О. О. Сергієнко, А. С. Ефімов // *Журн. АМН України*. — 2002. — Т. 8. — С. 487–506.
6. Role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis of rheumatoid arthritis [Text] / M. Nagashima, S. Yoshino, T. Ishiwata [et al.] // *J. Rheumatol*. — 1995. — Vol. 22. — P. 1624–1630
7. Яцишин Р. И. Роль факторов роста в патогенезі системної склеродермії [Текст] / Р. И. Яцишин // *Укр. ревматол. журн.* — 2002. — № 2. — С. 59–62.
8. Laviades C. Transforming growth factor beta in hypertensives with cardiorenal damage [Text] / C. Laviades, N. Varo, J. Diez // *Hypertension*. — 2000. — Vol. 36 (4). — P. 517–522.
9. Rosenkranz S. TGF-beta1 and angiotensin networking in cardiac remodeling [Text] / S. Rosenkranz // *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 [Текст] / Н. В. Белая // *Лаб. диагностика*. — 2005. — № 3. — С. 9–12.
11. Transcriptional activation of transforming growth factor-beta1 in mesangial cell culture by high glucose concentration [Text] / B. B. Hoffman, K. Sharma, Y. Zhu, F. N. Ziyadeh // *Kidney Int*. — 1998. — Vol. 54. — P. 1107–1116.
12. Tsilibary E. C. Microvascular basement membranes in diabetes mellitus [Text] / E. C. Tsilibary // *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 [Text] / S. Chen, M. P. Cohen, G. T. Lautenslager [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 [Text] / E. Korpinen, A. M. Teppo, L. Hukkanen [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 [Text] / E. Korpinen, P. H. Groop, J. A. Fagerudd, [et al.] // *Diabet. Med*. — 2001. — Vol. 18 (2). — P. 121–125.
16. Transforming growth factor-beta 1 in diabetic nephropathy [Text] / S. S. Metwally, Y. M. Mosaad, A. A. Nassr, O. M. Zaki // *Egypt. J. Immunol*. — 2005. — Vol. 12 (1). — P. 103–112
17. Neutralization of TGF-beta by anti-TGF-beta antibody attenuates kidney hypertrophy and the enhanced extracellular matrix gene expression in STZ-induced diabetic mice [Text] / K. Sharma, Y. Jin, J. Guo, F. N. Ziyadeh // *Diabetes*. — 1996. — Vol. 45. — P. 522–530.
18. Дедов И. И. Сахарный диабет [Текст] / И. И. Дедов, М. В. Шестакова. — М.: Универсум Паблишинг, 2003.
19. Балаболкин М. И. Микроангиопатия — одно из сосудистых осложнений сахарного диабета [Текст] / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, В. М. Кремнинская // *Consilium Medicum*. — 2000. — № 5.
20. Формування діабетичної нефропатії у дітей, хворих на цукровий діабет типу 1, у динаміці захворювання [Текст] / Г. О. Леженко, О. Є. Пашкова, І. В. Руднева, О. М. Чакмазова [та ін.] // *Міжнар. ендокринолог. журн.* — 2007. — № 2. — С. 80–81.
21. Леженко Г. О. Особливості формування, клініки та терапії діабетичної нефропатії у дітей, хворих на цукровий діабет I типу (сучасні погляди на стан проблеми) [Текст] / Г. О. Леженко, О. Є. Пашкова, О. М. Чакмазова // *Інноваційні технології в сучасній ендокринології*. — Науково-практична конференція. — Харків, 2008. — С. 60–67
22. Березняков А. Г. Перспективы использования препарата Диротон у больных артериальной гипертензией и сахарным диабетом 2 типа с микроальбуминурией [Текст] / А. Г. Березняков, А. В. Жадан // *Здоровье Украины*. — 2003. — № 72.
23. Мухин Н. А. Современная нефропротективная стратегия лечения хронических прогрессирующих заболеваний почек [Текст] / Н. А. Мухин // *Клинич. фармакол.* — 2002. — № 11 (2). — С. 58–62.
24. Hemodynamic effects of bradykinin on systemic and pulmonary circulation in healthy and hypertensive humans [Text] / G. Bonner, S. Preis, U. Schunck [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* [Text] / J. Higaki, M. Aoki, R. Morishita [et al.] // *Thromb. Vasc. Biol*. — 2000. — Vol. 20 (2). — P. 428–434.
26. Manabe I. Gene expression in fibroblasts and fibrosis: involvement in cardiac hypertrophy [Text] / I. Manabe, T. Shindo, R. Nagai // *Circ. Res*. — 2002. — Vol. 91 (12). — P. 1103–1113.
27. Leask A. TGFbeta, cardiac fibroblasts, and the fibrotic response [Text] / A. Leask // *Cardiovasc. Res*. — 2007. — Vol. 74 (2). — P. 207–212.

**ОЦІНКА РОЛІ ТРАНСФОРМУЮЧОГО ФАКТОРУ РОСТУ-БЕТА
У ФОРМУВАННІ ДІАБЕТИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ У ДІТЕЙ,
ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ**

Леженко Г. О., Пашкова О. Є., Каменщик А. В., Чакмазова О. М., Славкин Ю. Л.

Запорізький державний медичний університет

Досліджено рівень ТФР- β 1 в сироватці крові у дітей, хворих на цукровий діабет. Встановлено, що рівень ТФР- β 1 зростає при збільшенні терміну захворювання та залежить від застосованої схеми інсулінотерапії. Виявлені зміни відбуваються на тлі порушення морфо-функціонального стану нирок.

К л ю ч о в і с л о в а: цукровий діабет, діабетична нефропатія, трансформуючий фактор росту-бета.

**ОЦЕНКА РОЛИ ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА-БЕТА
В ФОРМИРОВАНИИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ У ДЕТЕЙ
С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

Леженко Г. А., Пашкова Е. Е., Каменщик А. В., Чакмазова Е. Н., Славкин Ю. Л.

Запорожский государственный медицинский университет

Исследован уровень ТФР- β 1 в сыворотке крови детей, больных сахарным диабетом. Установлено, что уровень ТФР- β 1 повышается при увеличении продолжительности заболевания и зависит от используемой схемы инсулинотерапии. Выявленные изменения происходят на фоне нарушения морфо-функционального состояния почек.

К л ю ч е в ы е с л о в а: сахарный диабет, диабетическая нефропатия, трансформирующий фактор роста-бета.

**ESTIMATION OF A ROLE OF TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA
IN FORMATION OF DIABETIC NEPHROPATHY IN CHILDREN
WITH DIABETES MELLITUS**

G. A. Lezhenko, E. E. Pashkova, A. V. Kamenshik, E. N. Chakmazova, Yu. L. Slavkin

Zaporizhzhya State Medical University

The level of transforming growth factor-beta 1 in children with diabetes mellitus was examined. This level was increased in dependence of the disease duration and had a direct relationship with the insulin-therapy. The revealed changes can develop against the background of morpo-functional nephropathies.

K e y w o r d s: diabetes mellitus, diabetic nephropathy, natriuretic peptide, transforming growth factor-beta.