

УДК 616.61-02:616.379-008.64]-018.74-092

Т.С. Оспанова, Н.В. Заозерська
Харківський національний медичний університет

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РІВНІВ МОЛЕКУЛ АДГЕЗІЇ Е-СЕЛЕКТИН, sICAM-1 ТА sVCAM-1 ПРИ ДІАБЕТИЧНІЙ НЕФРОПАТІЇ

Досліджували рівні молекул адгезії при діабетичній нефропатії порівняно з групою контролю. Обстежений 61 пацієнт у віці від 18 до 84 років. Виявлено статистично значуще збільшення концентрації молекул адгезії у хворих із ДН порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). Зростаючі концентрації sICAM-1 та sVCAM-1 рівноцінно та з високим ступенем достовірності відображають прогресування діабетичної мікроангіопатії. Використання досліджень вмісту молекул адгезії у хворих на цукровий діабет сприятиме ранньому виявленню ураження мікросудинного русла у хворих та буде підставою для своєчасного початку їх лікування.

Ключові слова: цукровий діабет, діабетична нефропатія, молекули адгезії.

Згідно з оцінками ВООЗ та Міжнародної федерації діабету на сьогоднішній день загальна кількість людей, що страждають на цукровий діабет (ЦД), сягає 200 млн. За прогнозами через 10 років ця цифра сягне вже 300 млн. Тому зростає питома вага пізніх важких ускладнень ЦД, таких як діабетична ретинопатія, яка є причиною сліпоти й зниження зору, та нефропатія (ДН), що посідає перше місце серед причин високої смертності від ниркової недостатності.

Провідним фактором, що визначає розвиток і прогресування ДН, є гіперглікемія та пов'язані з нею метаболічні розлади [3]. Поряд з цим вченими досліджується роль запальних реакцій у формуванні цього ускладнення. Показана роль мігруючих у нирки прозапальних клітин (моноцитів/макрофагів) у розвитку гломерулярного та інтерстиційного фіброзу при ЦД [5–7]. Міграція мононуклеарів та здійснення їх активності в нирках відбувається в тісній кооперації з резидентними клітинами й позаклітинним матриксом. Важливу роль при цьому відіграють цитокіни та молекули адгезії [1, 2, 4].

Молекули міжклітинної адгезії – це зв'язані з плазматичною мембраною білки, які забезпечують механічну взаємодію клітин одна з одною. За їх допомогою клітини при

русі можуть «підтягуватися» до інших клітин або переміщуватися по позаклітинному матриксу. Адгезія клітин одного типу до клітин іншого типу може змінюватися в результаті збільшення кількості молекул адгезії на клітинній поверхні. Підвищення адгезивності має велике значення в патогенезі дисфункції ендотелію при запаленні, атеросклерозі та інших патологічних процесах.

Міграція клітин – це складний процес, в якому на різних стадіях беруть участь декілька наборів молекул адгезії. У фізіологічних умовах ендотеліальна клітина не експресує молекули адгезії. Збільшення концентрації останніх на поверхні ендотеліальних клітин виникає внаслідок дії різних ушкоджуючих факторів – збільшення напруження у визначеній ділянці артерії, накопичення в субендотеліальному просторі окислених ліпідів (наприклад, у хворих на ЦД – при наявності в стінці судини недоокислених глікозильованих продуктів) та ін.

В нормальних умовах на ендотелії в невеликій кількості представлена розчинна форма молекули міжклітинної адгезії (ICAM)-2, завдяки якій відбувається формування пулу лейкоцитів у венозних судинах ШКТ, легенів та інших органів. Нейтрофіли з'являються у вогнищі гострого запалення на його ранній стадії, що зумовлено індукцією цитокінами

© Т.С. Оспанова, Н.В. Заозерська, 2012

експресії Е-селектину на поверхні ендотелію в цій ділянці. Стимуляція клітин ендотелію *in vitro* такими цитокінами, як TNF- α або IL-1 індукують експресію Е-селектину через 4–12 годин, а через 24 години вона зупиняється. В умовах *in vitro* індукції експресії sICAM-1 спостерігається в період 8–96 годин після стимуляції, що відповідає більш пізній появі *in vivo* у вогнищі запалення лімфоцитів та моноцитів. Експресія розчинної форми молекули адгезії судинного ендотелію (sVCAM-1), як і sICAM-1, індукуються в ділянці запалення, *in vitro* індукція цих двох молекул відбувається синхронно (рис. 1). Разом з тим механізми індукції Е-селектину, sICAM-1 і sVCAM-1 у різних популяцій лімфоцитів та клітин ендотелію на різних ділянках судинного русла розрізняються. Це забезпечує точну настройку міграції лейкоцитів крізь ендотелій при запаленні та послідовну появу у вогнищі різних клітинних популяцій [8, 12].

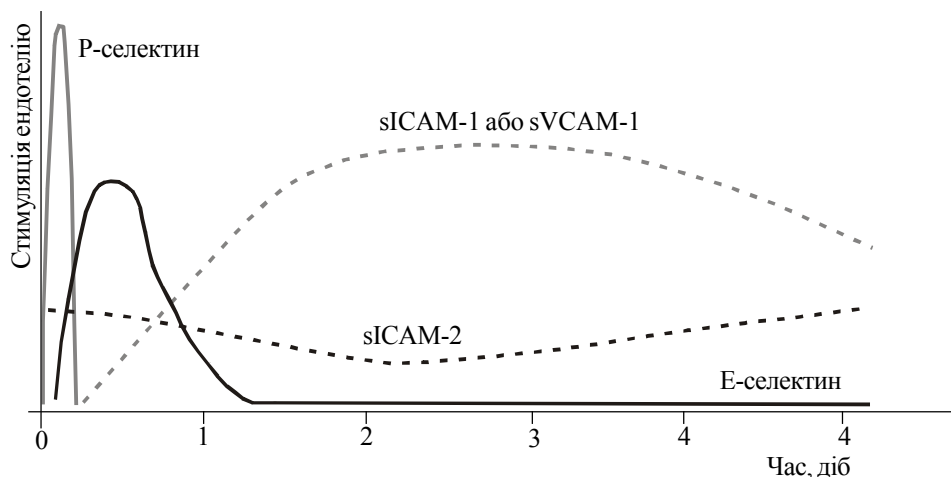


Рис. 1. Динаміка експресії різноманітних молекул клітинної адгезії на клітинах ендотелію після стимуляції

Деякі автори досліджували експресію молекул адгезії при ЦД. Отримані суперечливі дані: так, одна група дослідників встановила підвищення рівня розчинних форм sICAM-1 при ретино-, нефро- й кардіопатії [9,11], а інша – його відсутність при зростанні рівня sVCAM-1 й Е-селектину на різних стадіях ретино- та нефропатії [10]. Предметом дискусії є також взаємозв'язок молекул адгезії з рівнем HbA_{1c}. Деякі науковці підтверджують наявність позитивного зв'язку цих показників [13], а інші не поділяють такої точки зору [12, 14]. Наведене дозволяє приділити увагу вивченню особливостей перебігу

процесів. Більш детальне дослідження всіх факторів, що забезпечують міжклітинні взаємодії при розвитку діабетичних мікроангіопатій, надає нові діагностичні можливості для максимально раннього виявлення ураження судин при ЦД, а також подальшої перспективи його профілактики та лікування.

Метою нашої роботи було визначення рівнів експресії молекул адгезії Е-селектин, sICAM-1 та sVCAM-1 у хворих на ЦД на різних етапах захворювання залежно від стадії діабетичної нефропатії.

Матеріали та методи. Ми проводили обстеження хворих на ЦД у ендокринологічному відділенні КЗОЗ «ОКЛ ЦМЕД та МК». Був досліджений 61 пацієнт із різними стадіями ДН. Основна група складалася з 35,2 % чоловіків та 64,8 % жінок у віці від 18 до 84 років ($M \pm m = 49,13 \pm 12,32$ року). Загальна тривалість ЦД коливалася від 2 до 28 років ($M \pm m = 12,4 \pm 7,2$ року). Серед хворих перева-

жали хворі на ЦД 1-го типу – 63,93 %, на ЦД 2-го типу страждали 36,07 %.

Хворі були розділені на три групи: 1-а ($n=14$) – з відсутністю мікросудинних ускладнень; 2-а ($n=32$) – з початковими стадіями ураження мікросудинного русла (нефропатією на стадії мікроальбумінурії); 3-я ($n=15$) – з вираженими судинними ускладненнями (нефропатією на стадії протеїнурії). Всі вони були співнесені за статтю, віком і ступенем компенсації ЦД.

Усі пацієнти були обстежені за загальноприйнятною схемою: виявлення скарг, анамнезу, зовнішніх ознак, дослідження загально-

го аналізу крові, сечі, глюкози, загального білка, креатиніну, сечовини, глікованого гемоглобіну сироватки крові, ультразвукове дослідження нирок, визначення мікроальбумінурії (МАУ), за допомогою формули Кокрофта–Голта відбувся розрахунок швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ).

Контрольна група складалася з 9 здорових осіб: 5 чоловіків та 4 жінки ($M \pm m = 35 \pm 11,2$ року).

Дослідження вмісту E-selectin, sICAM-1, sVCAM-1 у сироватці крові проводилося на базі лабораторії Харківського спеціалізованого медико-генетичного центру у всіх пацієнтів однократно при госпіталізації за допомогою імуноферментних наборів для кількісного визначення виробництва Bender MedSystems (Австрія).

Статистична обробка результатів проводилася за допомогою пакету статистичних програм Microsoft Excel 2010. Розрахунки параметрів вибірок здійснювалися за загальноприйнятими методиками, достовірність розбіжностей показників у різних вибірках оцінювалася з використанням параметричних критеріїв: t-критерій Ст'юдента (p), критерій Фішера (P), достовірність вважалася установленною, якщо її вірогідність була не менш 95 % ($p < 0,05$).

Результати та обговорення. Клініко-лабораторне обстеження показало, що середні концентрації розчинної форми молекули міжклітинної адгезії sICAM-1 в крові хворих на ЦД склали ($1589,88 \pm 19,35$) нг/мл ($811,06$ – $1920,9$ нг/мл), в контрольній групі –

($1365,94 \pm 28,39$) нг/мл (700 – $1616,6$ нг/мл). Середній рівень sICAM-1 у хворих виявився значно вище за контроль ($p = 0,01$).

Середній рівень поверхневої розчинної молекули адгезії судинного ендотелію sVCAM-1 в групі пацієнтів із ЦД становив ($1495,73 \pm 205,5$) нг/мл (315 – $4938,5$ нг/мл), що значно перевищувало концентрацію даної молекули в контрольній групі – ($806,7 \pm 196,87$) нг/мл (100 – $1802,35$ нг/мл), різниця статистично значуща ($p < 0,05$).

Загальний показник рівня E-селектину в пацієнтів із ЦД склав ($49,26 \pm 1,76$) нг/мл ($14,1$ – $128,55$ нг/мл) та статистично значуще відрізнявся від групи контролю – ($44,26 \pm 1,26$) нг/мл ($19,3$ – $76,05$ нг/мл), критерій достовірності $p < 0,05$.

Залежність рівня sICAM-1 від стадії ДН представлена на рис. 2. У пацієнтів I групи зафіксовано підвищення рівня молекули адгезії sICAM-1 ($M \pm m = 1495,72 \pm 15,34$ нг/мл), що досягла статичної значущості ($p < 0,001$), порівняно з контрольною групою. Слід відмітити, що показник sICAM-1 значно перевищив очікувані рівні в загальній популяції, які коливаються в межах $52,5$ – $1047,2$ нг/мл. Достовірне підвищення sICAM-1 мало місце у хворих II групи ($M \pm m = 1582,36 \pm 17,54$ нг/мл) порівняно з групою контролю й пацієнтами I групи ($p < 0,001$) та у хворих III групи ($M \pm m = 1692,81 \pm 16,71$ нг/мл), порівняно з контролем та II групою ($p < 0,001$). Тобто мала місце тенденція до поступового зростання рівня розчинної молекули адгезії у міру прогресування ураження мікросудинного русла.

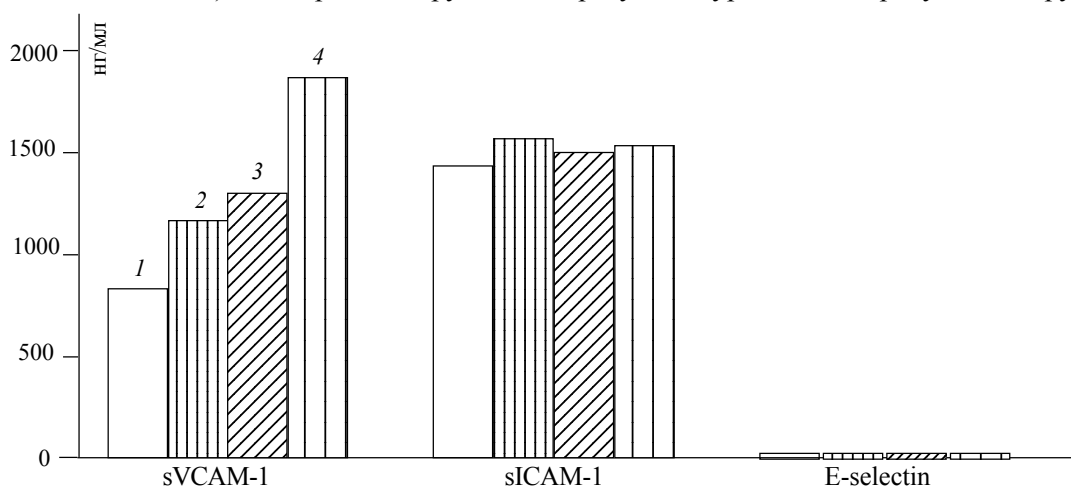


Рис. 2. Динаміка показників молекул адгезії залежно від вираженості ДН:

1 – контроль; 2 – ДН без МАУ; 3 – ДН з МАУ; 4 – ДН з ПУ

Отже, кількість сироваткової sICAM-1 корелює з важкістю клінічних проявів захворювань і може бути ознакою активності процесу та деструкції клітин ниркового ендотелію.

У міру прогресування мікроангіопатії в нирках значення sVCAM-1 також зростало в групах хворих із різними стадіями ДН (табл. 1). Так, в I групі пацієнтів відмічено достовірне підвищення рівня sVCAM-1

прогресування ДН характерні як для хворих із ЦД 1-го типу, так і для ЦД 2-го типу.

Результати кореляційного аналізу Пірсона виявили достовірну позитивну кореляцію концентрації sVCAM-1 ($r=0,3$, $p<0,05$) та sICAM-1 ($r=0,26$, $p<0,05$) із рівнем МАУ та кореляцію sVCAM-1 із протеїнурією ($r=0,5$, $p<0,05$).

Діагностична та прогностична цінність sICAM-1 й sVCAM-1 значно вище, ніж E-се-

Таблиця 1. Динаміка показників молекул адгезії залежно від вираженості ДН

Показники	Група контролю, n=9	I група, n=14	II група, n=32	III група, n=15
sVCAM-1, нг/мл	806,7±196,87	1142,88±47,8 [^]	1462,27±71,39 ^{^*}	2113,48±60,83 ^{^***}
sICAM-1, нг/мл	1365,94±28,39	1495,72±15,34 [^]	1582,36±17,54 ^{^*}	1692,81±16,71 ^{^***}
E-селектин, нг/мл	44,21±12,64	42,43±16,7	48,76±18,6	56,72±20,5

Примітка. [^] $p<0,01$ порівняно з контрольною групою, ^{*} $p<0,001$ порівняно з I групою, ^{**} $p<0,01$ порівняно з II групою.

($M\pm m=1142,88\pm 47,8$ нг/мл) порівняно з групою контролю ($p<0,01$), але цей показник не перевищував найвищого нормального рівня в популяції (400,6–1340,8 нг/мл). Ступінь тяжкості ураження мікросудинного русла прямо корелював із рівнем sVCAM-1. Спостерігалось достовірно значуще прогресуюче підвищення рівня sVCAM-1 в сироватці крові хворих у II групі ($M\pm m=1462,27\pm 71,39$ нг/мл, $p<0,001$) та у III групі – $M\pm m=2113,48\pm 60,83$ нг/мл ($p<0,001$).

Середній показник рівня E-селектину в пацієнтів I групи був нижче за показник групи контролю ($M\pm m=42,43\pm 1,67$ нг/мл) та різниця не була статистично значущою. У хворих II та III груп концентрація E-селектину збільшувалася ($M\pm m=48,76\pm 18,6$ нг/мл та $M\pm m=56,72\pm 20,5$ нг/мл відповідно), але достовірності не мала.

Аналізуючи табл. 2, можна зазначити, що наведені вище зміни концентрацій молекул sICAM-1, sVCAM-1 та E-селектин у міру

лектину. Їх показники з однаковою достовірністю підвищені на доклінічних стадіях ураження мікросудин та зростають у міру їх прогресування. Частота виявлення підвищеного рівня sICAM-1 на доклінічних стадіях мікроангіопатії вище, ніж sVCAM-1 (78,57 та 64,28 % відповідно). Крім того, він вище за найбільший нормальний популяційний рівень, що дає підставу вважати визначення sICAM-1 пріоритетним у виборі раннього діагностичного тесту.

Залежно від тривалості ураження нирок встановлено, що у міру прогресування ДН показники sVCAM-1 та E-селектину прогресивно збільшуються (табл. 3), а показник sICAM-1 зменшується.

Хворі з артеріальною гіпертензією мали більш високі значення E-селектину порівняно з пацієнтами без артеріальної гіпертензії (38,36±1,77 та 51,94±1,77 нг/мл відповідно, $p<0,001$), у той же час при гіпертензії 3-го сту-

Таблиця 2. Динаміка рівня молекул адгезії залежно від стадії ДН та типу ЦД

Показники		I група, n=14	II група, n=32	III група, n=15
sVCAM-1, нг/мл	ЦД 1-й тип	1155,06±47,3	1577,66±69,6	2698,87±10,3
	ЦД 2-й тип	1098,21±52,2	1241,65±41,8	1661,08±68,7
sICAM-1, нг/мл	ЦД 1-й тип	1518,91±15,7	1568,45±20,4	1700,82±14,6
	ЦД 2-й тип	1410,66±14,2	1620,61±16,6	1688,81±17,9
E-селектин, нг/мл	ЦД 1-й тип	41,93±1,68	51,11±1,65	44,05±1,66
	ЦД 2-й тип	44,28±1,52	42,77±1,35	63,05±2,17

Таблиця 3. Динаміка рівнів молекул адгезії залежно від тривалості ДН

Показники	До 5 років, n=38	5–10 років, n=18	Більше 10 років, n=5
sVCAM-1, нг/мл	1373,95±70,97	1493,37±51,5	2429,69±91,39**^
sICAM-1, нг/мл	1625,2±19,41	1558,75±19,17*	1447,68±16,09**^
E-селектин, нг/мл	47,46±1,69	48,09±1,49	67,23±2,9**^

Примітка. * p<0,05 порівняно з тривалістю до 5 років; ^ p<0,001 порівняно з тривалістю 5–10 років.

пеня показник був найвищим ($M \pm m = 74,07 \pm 2,13$ нг/мл). Вміст E-селектину позитивно корелював із величиною систолічного та діастолічного артеріального тиску ($r=0,241$; $p<0,05$ та $r=0,243$; $p<0,05$ відповідно).

Виявлено позитивний значущий кореляційний взаємозв'язок між концентрацією молекули E-селектину та масою тіла ($r=0,3$; $p<0,05$) й індексом маси тіла ($r=0,34$; $p<0,05$).

Рівень sVCAM-1 при частково компенсованому та некомпенсованому діабеті був достовірно вище ($M \pm m = 1733,36 \pm 51,5$ нг/мл, $p<0,01$), ніж при добре та достатньо добре компенсованому діабеті ($M \pm m = 1447,8 \pm 91,3$ нг/мл).

Встановлено, що у міру прогресування хронічної хвороби нирок та зниження швидкості клубочкової фільтрації показник sVCAM-1 достовірно збільшувався.

При кореляційному аналізі не виявлено статистично значущої кореляції показників sICAM-1, sVCAM-1 із віком, тривалістю діабету, палінням, індексом маси тіла, рівнем артеріального тиску, рівнем загального білка, креатиніну, сечовини, глікемією, добовою дозою інсуліну.

Список літератури

1. Белки адгезии как маркёры диабетических микроангиопатий / Е.А. Войнова, М. Ю. Болгова, Т. М. Шалаева, И. К. Закляков // Материалы IV практической конференции с международным участием «Достижения фундаментальной науки в решении актуальных проблем медицины». — Астрахань–Волгоград, 2006. — С. 49–53.
2. Дисфункция эндотелия в развитии сосудистых осложнений сахарного диабета / И. И. Дедов, М. В. Шестакова, Т. В. Кочемасова [и др.] // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. — 2001. — № 8 (87). — С. 1073–1084.
3. Диабетическая нефропатия / А. И. Дядык, А. Э. Багрий, Е. Я. Дядык [и др.] // Український журнал нефрології та діалізу. — 2010. — № 4 (28). — С. 61–67.
4. Изучение молекул адгезии эндотелиальных клеток и лейкоцитов у больных с диабетической микроангиопатией / Т. В. Кочемасова, М. В. Шестакова, В. А. Горелышева [и др.] // Молекулярная медицина. — 2004. — № 2. — С. 28–31.
5. Ромаданова О. І. Ефективність корекції клітинних механізмів прогресування хронічної хвороби нирок при цукровому діабеті II типу / О. І. Ромаданова // Актуальні проблеми сучасної

медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. — 2010. — Т. 10, № 3. — С. 40–244.

6. *Ромаданова О. І.* Особливості клітинно-метаболических механізмів забезпечення окиснювального гомеостазу на стадіях прогресування хронічної хвороби нирок / *О. І. Ромаданова* // Вісник проблем біології і медицини. — 2011. — № 3, Т. 3. — С. 107–113.

7. *Семидоцкая Ж. Д.* Клеточно-молекулярные механизмы прогрессирования хронической болезни почек / *Ж. Д. Семидоцкая, О. И. Ромаданова* // Перспективні технології діагностики і лікування терапевтичних захворювань: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 30-річчю з дня заснування ДУ «Ін-т терапії ім. Л. Т. Малої НАМН України», 21 жовтня 2010 р. — Харків, 2010. — С. 162.

8. Relation between glycemic control, hyperinsulinemia and plasma concentrations of soluble adhesion molecules in patients with impaired glucose tolerance or type 2 diabetes / *M. Bluher, R. Unger, F. Rassoul et al.* // *Diabetologia*. — 2002. — № 45. — P. 210–216.

9. *Calles-Escandon J.* Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective / *J. Calles-Escandon, M. Cipolla* // *Endocr. Rev.* — 2001. — № 22. — P. 36–52.

10. *Cooper M. E.* Targets to retard the progression of diabetic nephropathy / *M. E. Cooper, K. Jandeleit-Dahm, M. C. Thomas* // *Kidney Int.* — 2005. — Vol. 68, № 4. — P. 1439–1445.

11. *Gross M. L.* Diabetic nephropathy: recent insights into the pathology and the progression of diabetic nephropathy / *M. L. Gross, R. Dikow, E. Ritz* // *Kidney Int.* — 2005. — Vol. 67 (Suppl. 94). — P. S50–S53.

12. Vitreous levels of vascular cell adhesion molecule and vascular endothelial growth factor in patients with proliferative diabetic retinopathy: a case-control study / *C. Hernandez, R. Burgos, A. Canton [et al.]* // *Diabetes*. — 2001. — № 24. — P. 516–521.

13. Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis / *I. Malik, J. Danesh, P. Whincup [et al.]* // *Lancet*. — 2001. — Vol. 358. — P. 971–975.

14. The effect of cigarette smoking on soluble adhesion molecules in middle-aged patients with type 2 diabetes mellitus / *N. Takeuchi, T. Kawamura, A. Kanai [et al.]* // *Diabet. Mel.* — 2002. — Vol. 19. — P. 57–64.

Т.С. Оспанова, Н.В. Заозерская

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА УРОВНЕЙ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ E-СЕЛЕКТИН, sICAM-1 И sVCAM-1 ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ

Исследовали уровни молекул адгезии при диабетической нефропатии в сравнении с группой контроля. Обследован 61 пациент в возрасте от 18 до 84 лет. Обнаружено статистически значимое увеличение концентрации молекул адгезии у больных с ДН в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$). Растущие концентрации sICAM-1 и sVCAM-1 равноценно и с высокой степенью достоверности отображают прогрессирование диабетической микроангиопатии. Скрининговое исследование концентрации молекул адгезии у больных сахарным диабетом будет способствовать раннему выявлению поражения микрососудистого русла у больных и будет основанием для своевременного начала их лечения.

Ключевые слова: сахарный диабет, диабетическая нефропатия, молекулы адгезии.

T.S. Ospanova, N.V. Zaozerska

COMPARATIVE ANALYSIS OF ADHESION MOLECULES LEVELS E-SELECTIN, sICAM-1 AND sVCAM-1 AT DIABETIC NEPHROPATHY

Levels of adhesion molecules were investigated at diabetic nephropathy vs control group. 61 patients aged from 18 till 84 years were observed. Statistically significant increasing in concentration of adhesion molecules is revealed at patients with DN vs control group ($p < 0,05$). Increasing of sICAM-1 and sVCAM-1 concentration show progressing of diabetic microangiopathy with high degree of reliability. Screening research of concentration of adhesion molecules at patients with diabetes will promote early identification of microvascular damage and will be the basis for the beginning of their treatment.

Key words: diabetes, diabetic nephropathy, adhesion molecules.

Поступила 17.10.12