



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

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

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

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

Research Article

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

doi: 10.31450/ukrjnd.1(61).2019.02

The level of vascular endothelial growth factor in peripheral blood of type 2 diabetic patients depending on kidney functional state

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

Citation:

I. Topchii, T. Shcherban, V. Galchinska, P. Semenovykh, K. Savicheva. The level of vascular endothelial growth factor in peripheral blood of type 2 diabetic patients depending on kidney functional state. Ukr J Nephrol Dial. 2019;1(61): 13-19. doi: 10.31450/ukrjnd.1(61).2019.02

Abstract. *The aim of the study was to assess a serum level of vascular endothelial growth factor (VEGF) in type 2 diabetic patients depending on kidney function.*

Methods: we examined 66 type 2 diabetic patients and 20 healthy control subjects. Depending on the presence of albuminuria and glomerular filtration rate (GFR) level, patients with diabetes mellitus (DM) were divided into the following groups: group I - patients with type 2 DM without signs of nephropathy – normal GFR without albuminuria (n = 26); group II - patients with type 2 DM with normal GFR and albuminuria (n = 22); group III - patients with type 2 DM with reduced GFR and albuminuria (n = 18). IV group - patients with acute coronary syndrome (n = 26).

The concentration of the VEGF was determined by enzyme-linked immunosorbent assay. The glomerular filtration rate (GFR) was calculated using the CKD EPI formula (KDIGO 2012).

Results: serum VEGF level in patients with diabetic nephropathy (DN) was significantly increased depending on kidney function.

VEGF positively correlated with urine albumin and serum creatinine levels and the negative correlation with GFR was found. These findings prove the undeniable role of kidneys in the development of renocardial syndrome in patients with DN. VEGF levels positively correlated with glycosylated hemoglobin and total cholesterol, indicating an unconditional dependence of endothelial dysfunction on lipid and glucose metabolism disorders.

Conclusions: Increased levels of VEGF in type 2 diabetic patients without clinical signs of kidney damage may indicate the development of subclinical renal dysfunction. Blood VEGF in patients with DN may be an integral marker of endothelial dysfunction and pathological angiogenesis. Our findings suggest that determination of serum VEGF level in patients with DN may have practical use as an early predictor of cardiac disruption, estimation of the prognosis, as well as improvement of cardionephroprotective strategy.

Keywords: *diabetes mellitus, diabetic nephropathy, vascular endothelial growth factor.*

Conflict of interest statement: all the authors declared no competing interests.

© I. Topchii, T. Shcherban, V. Galchinska, P. Semenovykh, K. Savicheva, 2019.
All rights reserved.

Correspondence should be addressed to Ivan Topchii: itopchii@ukr.net

Article history:

Received January 13, 2019

Received in revised form
February 20, 2019

Accepted February 22, 2019



© Топчій І. І., Щербань Т. Д., Гальчінська В. Ю., Семенових П. С., Савічева К. О., 2019

УДК 616.61-092:616.379-008.64

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

Вміст васкулоендотеліального фактору росту в сироватці крові хворих на цукровий діабет 2 типу залежно від функціонального стану нирок

Державна установа „Національний інститут терапії ім. Л.Т.Малої НАМН України”,
м. Харків, Україна

Резюме. *Мета роботи:* визначення вмісту васкулоендотеліального фактору росту (VEGF) в сироватці крові хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу в залежності від функціонального стану нирок.

Матеріал та методи: було обстежено 66 хворих та 20 здорових осіб (контроль). В залежності від наявності альбумінурії та ШКФ хворі на ЦД були розподілені на наступні групи: I група – хворі на ЦД 2 типу без ознак нефропатії - з нормальною ШКФ та без альбумінурії (n=26). II група – хворі на ЦД 2 типу з нормальною ШКФ та альбумінурією (n=22). III група – хворі на ЦД 2 типу зі зниженою ШКФ та альбумінурією (n=18). IV група – хворі на гострий коронарний синдром (n=26). Концентрацію VEGF визначали методом імуноферментного аналізу. Швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) розраховували за формулою CKD-EPI (KDIGO 2012).

Результати: у хворих на діабетичну нефропатію (ДН) має місце суттєве підвищення рівня VEGF в сироватці крові, яке залежить від функціонального стану нирок. Рівень VEGF становив (156,98±21,16) пг/мл при ЦД без ниркових порушень, (192,63±20,31) пг/мл при ДН з альбумінурією та (367,43±36,15) пг/мл при ДН зі зниженням ШКФ.

Встановлено прямий кореляційний зв'язок концентрації VEGF з рівнями альбуміну сечі й креатиніну крові та зворотній кореляційний зв'язок зі ШКФ, що доводить безперечну роль нирок в розвитку ренокардіального синдрому у пацієнтів з ДН. Рівні VEGF позитивно корелювали з глікозованим гемоглобіном і загальним холестерином, що вказує на безумовну залежність ендотеліальної дисфункції від порушень ліпідного та вуглеводного обміну.

Висновки: У пацієнтів з ЦД, які не мають клініко-лабораторних ознак ураження нирок, підвищення VEGF в крові може свідчити про розвиток субклінічної ниркової дисфункції. VEGF крові у пацієнтів з ДН може бути інтегральним маркером ендотеліальної дисфункції і патологічного ангіогенезу. Результати проведених досліджень свідчать про доцільність практичного використання визначення VEGF в сироватці крові хворих на ДН в якості раннього діагностичного маркера кардіальних порушень, оцінки прогнозу, а також вдосконалення кардіо-нефропротекторної стратегії.

Ключові слова: цукровий діабет, діабетична нефропатія, васкулоендотеліальний фактор росту

Вступ. Поширеність цукрового діабету (ЦД) за останнє десятиліття зростає до масштабів епідемії. Число хворих на ЦД у всьому світі складає приблизно 366 мільйонів відповідно до оцінки Міжнародної федерації діабету, з яких цукровий діабет 2-го типу становить приблизно від 90 % до 95% [1].

Для ЦД 2-го типу характерна мікросудинна дисфункція та, як наслідок, високі ризики виникнення мікросудинних ускладнень, зокрема діабетичної нефропатії (ДН) [2, 3]. В свою чергу, зниження ниркової функції внаслідок розвитку ДН прискорює розвиток серцево-судинної патології [4]. Як в патогенезі ДН, так і в механізмах впливу захворювання нирок на виникнення і розвиток серцево-судинної патології у хворих на ЦД

принципове значення має порушення мікро- та макроциркуляції. Останнє обумовлено впливом різноманітних патогенетичних факторів, таких як гіперінсулінемія, альбумінурія, азотемія, дисліпідемія, анемія, призводять до активації медіаторів запалення, фіброзу і факторів росту та до розвитку ендотеліальної дисфункції [5]. Ці процеси є причиною клітинної проліферації, що лежить в основі структурно-функціональної перебудови серцево-судинної системи. Хоча суворий глікемічний контроль знижує частоту і прогресування мікросудинних ускладнень, генетичні, метаболічні, гемодинамічні фактори і фактори навколишнього середовища істотно впливають на розвиток ДН [6, 7]. Однак молекулярні механізми розвитку ДН у пацієнтів з ЦД остаточно не визначені. Одним з визнаних біомаркерів дисфункції ендотелію є васкулоендотеліальний фактор росту (vascular endothelial growth factor – VEGF), який активується при формуванні атеросклерозу, гіпертонічної хвороби, цукрового діабету 2-го типу [8]. Було показано, що VEGF є раннім маркером ушкодження нирок у хворих з серцево-судинною патологією [9].

Щербань Тетяна Дмитрівна

std_19@ukr.net

В останнє десятиліття накопичені дані про важливу роль VEGF в патогенезі ряду серцево-судинних захворювань і про перспективи його застосування з терапевтичною метою.

Так, в ряді досліджень показано, що рівень VEGF вище у хворих з ішемічною хворобою серця (ІХС) в порівнянні зі здоровими добровольцями [10]. Підвищення VEGF реєструється і в підгострій фазі інфаркту міокарда [11]. Встановлено, що VEGF досить швидко реагує на ішемію. При цьому в спокої у хворих на ішемічну хворобу серця та помірним коронарним атеросклерозом рівень VEGF може не відрізнятися від такого у здорових осіб [12].

Проте, незважаючи на інтенсивність досліджень, що проводяться у даному напрямку, дотепер не існує єдиної думки про роль VEGF як в патогенезі ДН, так і в формуванні серцево-судинних ускладнень.

Мета роботи: визначення вмісту VEGF в сироватці крові хворих на ЦД 2 типу в залежності від функціонального стану нирок.

Матеріали та методи. Дослідження проводились у відділі нефрології на базі клінічного відділення гіпертензій та захворювань нирок ДУ «Національний інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України» Функціональні дослідження були виконані у відділенні функціональної та ультразвукової діагностики. Лабораторні дослідження проводились у клініко-діагностичній лабораторії. Біохімічні та імуноферментні дослідження виконували у лабораторії імуно-біохімічних і молекулярно-генетичних досліджень. Дослідження виконані згідно міжнародних стандартів щодо погодженої участі обстежених, етичної складової виконання досліджень та взяття біоматеріалу. Хворі, які брали участь в дослідженні, підписували інформовану згоду на участь у ньому. Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964-2013 рр.), ICH GCP (1996 р.), директиви ЄЕС №609 від 24.11.1986 р., наказів МОЗ України №690 від 23.09.2009р., №616 від 03.08.2012р.

В процесі виконання дослідження обстежено 66 хворих на ЦД 2-го типу, група порівняння – 26 хворих на гострий коронарний синдром, що перебували на лікуванні у відділенні гіпертензій та захворювань нирок клініки ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т.Малої НАМН України». Контрольну групу склали 20 здорових осіб.

Критеріями включення пацієнтів були: наявність ЦД 2 типу або гострого коронарного синдрому, підписання інформованої згоди на участь у дослідженні. Критеріями виключення пацієнтів були: вік менше 18 років, вагітні жінки, хворі з декомпенсацією ЦД, наявність первинної патології нирок (сечокам'яна хвороба, інфекції сечо-

вивідних шляхів, уроджені аномалії нирок), термінальна стадія ниркової недостатності, тяжкі захворювання печінки, злоякісні новоутворення, захворювання системи крові, відсутність інформованої згоди.

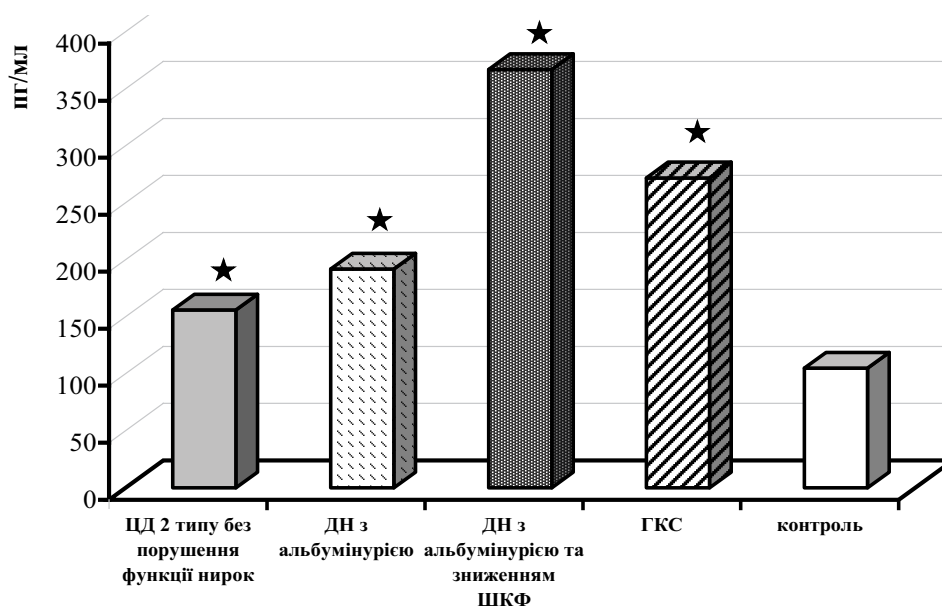
Усі хворі та особи контрольної групи були обстежені згідно наступного плану: загально-клінічне обстеження, антропометричне обстеження, лабораторне обстеження (клінічні аналізи крові та сечі), визначення функціонального стану нирок шляхом розрахунку *швидкості клубочкової фільтрації* (ШКФ), визначення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

Після первинного обстеження в залежності від наявності альбумінурії та ШКФ пацієнти були розподілені на наступні групи: I група – хворі на ЦД 2 типу без ознак нефропатії – з нормальною ШКФ та без альбумінурії (n=26). II група – хворі на ЦД 2 типу з нормальною ШКФ та альбумінурією (n=22). III група – хворі на ЦД 2 типу зі зниженою ШКФ та альбумінурією (n=18). IV група – хворі на гострий коронарний синдром (n=26).

Серцева гемодинаміка вивчалася методом кількісної ехокардіографії із розрахунками параметрів за Teicholz L. et al. (1972). Рівень альбумінурії визначали методом Робертса-Стольникова. ШКФ розраховували за формулою СКД-ЕРІ (KDIGO 2012). Ліпідний спектр крові – загальний холестерин (ЗХС), холестерин ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ), тригліцериди (ТГ) визначали імуноферментним методом. Вміст глікованого гемоглобіну HbA1c (%) визначали фотометричним іонообмінним методом згідно інструкції до набору реактивів фірми Human (Німеччина). Концентрацію VEGF визначали методом імуноферментного аналізу з використанням тест-системи Вектор-Бест.

Математичний аналіз метричних даних проводили з використанням варіаційної статистики за стандартними ліцензійним комп'ютерними програмами: Microsoft Office Excel 2006 та STATISTICA for Windows 6.0 (Statsoft Inc., США). Відмінності між групами середніх величин та їх похибки ($M \pm m$) оцінювали за допомогою критерію Стьюдента-Фішера. Достовірною вважалася ймовірна похибка менше 5% ($p < 0,05$). Перевірку нормальності розподілу показників здійснювали за допомогою тесту Колмогорова-Смірнова. Кореляцію кількісних ознак оцінювали шляхом розрахунку коефіцієнта Пірсона.

Результати. Як показали результати дослідження, рівень VEGF у досліджуваних хворих коливався від 33,91 до 1888,05 пг/мл. У хворих всіх досліджуваних груп мали місце суттєві зміни вмісту VEGF в сироватці крові, його рівні були вище у пацієнтів з діабетом та гострим коронарним синдромом, ніж у здорових людей ($p < 0,05$) (рис. 1).



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

Рис. 1. Концентрація VEGF в сироватці крові хворих на ЦД 2 типу, гострий коронарний синдром та здорових донорів.

Так рівень VEGF становив ($156,98 \pm 21,16$) пг/мл в I групі (ЦД без ниркових порушень), ($192,63 \pm 20,31$) пг/мл в II групі (ДН з альбумінурією) та ($367,43 \pm 36,15$) пг/мл в III групі (ДН зі зниженням ШКФ) обстежених. В групі хворих на гострий коронарний синдром вміст VEGF в сироватці крові сягав ($272,90 \pm 26,14$) пг/мл. В

контрольній групі середні значення становили ($105,75 \pm 18,23$) пг/мл.

З метою виявлення взаємозв'язків між VEGF та показниками функціонального стану нирок, а також основними клініко-лабораторними характеристиками у хворих на ДН нами був проведений кореляційний аналіз, представлений у таблиці 1.

Таблиця 1

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

Показник	r	p
альбумінурія, г/л	+ 0,66	< 0,02
креатинін, мкмоль/л	+ 0,71	< 0,03
ШКФ, мл/хв/1,73м ²	- 0,58	< 0,05
САТ, мм рт.ст.	+ 0,43	< 0,04
ДАТ, мм рт.ст.	+ 0,52	< 0,05
загальний ХС, ммоль/л	+ 0,74	< 0,01
НbA1c, %	+ 0,55	< 0,03
ІМТ	+ 0,38	< 0,05

Кореляційний аналіз виявив достовірну асоціацію VEGF з рівнями креатиніну та альбумінурії, що доводить безперечну роль нирок в розвитку ренокардіального синдрому у пацієнтів з ДН. Ряд досліджень показав, що надлишкова продукція VEGF може бути сполучною ланкою між мікроальбумінурією і серцево-судинним ризиком, оскільки він не тільки підвищує проникність судинної стінки, сприяючи геморагічним і атеросклеротичним

процесам, а й збільшує проникність клубочкового фільтра для альбуміну [1, 2].

Крім того, встановлено зворотній кореляційний зв'язок швидкості клубочкової фільтрації з концентрацією VEGF (табл. 1.). Високі показники кореляції свідчать, що рівень останнього в певній мірі відображає функціональний стан нирок та може бути використаний як доповнення до традиційних методів обстеження хворих.

Ми виявили, що рівні VEGF позитивно корелювали з глікемічним контрольним показником HbA1c і загальним ХС, що вказує на безумовну залежність ендотеліальної дисфункції від порушень ліпідного та вуглеводного обміну. Крім того, встановлено кореляційні зв'язки між рівнем VEGF в крові та САТ, ДАТ, а також ІМТ (див. табл. 1).

Отримані нами дані відображають як наявність ендотеліальної дисфункції, так і активацію механізмів ангіогенезу, які є ланками процесів ремоделювання мікросудинного русла нирки при ДН та можуть вносити вклад в розвиток серцево-судинних ускладнень.

Перспективним є подальше вивчення значення VEGF у розвитку серцево-судинних ускладнень при ДН, в основі яких лежать процеси порушення кровообігу й ішемія (ішемічна хвороба серця, порушення периферичного кровообігу, ренального кровотоку). Актуальним також є розробка нових методів лікування ДН, заснованих на корекції вмісту даного фактора.

Обговорення. На даний час показано, що VEGF, відіграючи важливу роль у підтримці стабільності ендотелію і фізіологічному неоангіогенезі, одночасно бере активну участь в процесах неоваскуляризації при патологічних станах, зокрема в рості атеросклеротичної бляшки і неопластичних процесах в онкогенезі [3, 6].

Ми провели аналіз літературних даних щодо конкретних ланок патогенезу ДН, в яких може приймати участь VEGF, зокрема це гіперглікемія, ренін-ангіотензин-альдостеронова система (РААС), окисний стрес та хронічне запалення.

Повідомлялося, що хронічна гіперглікемія стимулює синтез і секрецію VEGF-A, виникає ланцюгова реакція, яка сприяє накопиченню VEGF-A, а потім призводить до мікросудинних ускладнень ЦД [7]. Характерним параметром для оцінки контролю глюкози в крові є рівень HbA1c. Махді і ін. вимірювали рівень VEGF в сироватці у пацієнтів з ЦД 2 типу до глікемічного контролю і через 4 місяці спостереження і відзначали суттєве зниження рівня VEGF в сироватці крові у пацієнтів з глікемічним контролем [14]. Ці попередні дослідження збігаються з результатами нашого дослідження, які показують, що існує значна кореляція між концентраціями VEGF і глікемічним контролем.

Таким чином, хронічна гіперглікемія стимулює синтез і секрецію VEGF-A і запускає ряд взаємозв'язаних метаболічних і гемодинамічних ефектів, які сприяють збільшенню VEGF-A і призводять до мікросудинних ускладнень ЦД.

Без сумніву, порушення функціонування ренін-ангіотензинової системи відіграє ключову роль в розвитку ДН [15]. У мишей з надекспресією АПФ2 відзначалися більш м'який перебіг ДН, більш високий Ang1-7, нижчі рівні Ang II, VEGF-A, колагену IV, показників окисного стресу і альбумінурії [16].

Окислювальний стрес при цукровому діабеті відбувається через надмірну кількість вільних радикалів кисню та азоту (ROS/RNS). Накопичені дані, що свідчать про позитивний зворотній зв'язок між шляхами VEGF-A і NO, що на думку авторів може відігравати центральну роль в патогенезі діабетичних ускладнень [13, 17, 18].

За даними літератури VEGF відіграє важливу роль в ініціації процесів запалення [18]. Патогенетично значуще підвищення рівня VEGF відзначається у хворих з різними запально-деструктивними захворюваннями суглобів, при загостренні пієлонефриту. Запальна реакція може призводити до збільшення проникності судин та апоптозу ендотеліальних клітин [19, 20].

Незалежно від механізму, що приводить до зростання VEGF-A при діабеті, його збільшення дезорієнтує численні сигнальні шляхи і спричиняє аномалії, які характеризують діабетичну гломерулопатію. Ряд даних свідчать про те, що високий локальний VEGF-A опосередковує гломеруломегалію, яка зазвичай спостерігається при ДН [13, 21].

Хоча достатні дані свідчать про те, що окисний стрес, АПФ, Ang II і низький рівень NO відіграють патогенну роль в розвитку ДН, багато авторів вважають, що жоден з цих факторів не індукує фенотип ДН як такий, при відсутності діабету, припускаючи, що вони діють спільно з діабетичним оточенням. Навпаки, стосовно VEGF було показано, що його надмірне утворення викликає клубочкові аномалії, схожі на експериментальні моделі ДН у гризунів і на ДН у людини, тобто триаду – гломеруломегалію, мезангіальна експансія і потовщення базальної мембрани, пов'язані з альбумінурією і при відсутності діабету [22].

Деякі автори вважають, що при діабеті відбувається надмірний синтез і експресія VEGF в клітинах нирки, що при низьких рівнях ендотеліального NO стимулює зростання і проліферацію мезангіальних і ендотеліальних клітин і призводить до збільшення накопичення позаклітинного матриксу, гіперфільтрації, протеїнурії. Грунтуючись на плейотропних ефектах VEGF-A і NO, цей погляд на патогенез ДН відповідає переважній більшості попередніх і недавніх результатів отриманих на тваринних моделях ДН, при ДН у людей і відомих поліморфізмах, пов'язаних з важким перебігом ДН. Такі висновки акцентують важливість регулювання утворення VEGF або його рецептора при діабеті та його ускладненнях.

Таким чином, VEGF являє собою мультифункціональний цитокін, фізіологічні ефекти якого можуть бути, як позитивними і необхідними для нормального функціонування органів і тканин, так і приводити до патологічних, навіть смертельно небезпечних ускладнень захворювань.

Висновки. У хворих на ДН виявлено суттєве підвищення рівня VEGF в сироватці крові, яке має тісний взаємозв'язок з функціональним станом

нирок. Встановлено прямий кореляційний зв'язок концентрації VEGF з рівнями альбуміну сечі й креатиніну крові та зворотною кореляційний зв'язок зі ШКФ, що доводить безперечну роль нирок в розвитку ренокардіального синдрому у пацієнтів з ДН. У пацієнтів з ДН, які не мають клініко-лабораторних ознак ураження нирок, підвищення VEGF в крові може свідчити про розвиток субклінічної ниркової дисфункції.

Результати проведених досліджень свідчать про доцільність практичного використання визначення VEGF в сироватці крові хворих на ДН в якості раннього діагностичного маркера кардіальних порушень, оцінки прогнозу, а також вдосконалення кардіонефропротекторної стратегії.

Література (References):

1. *Silvestre JS, Levy BI.* Molecular basis of angiopathy in diabetes mellitus. *Circ Res.* 2006;98:4–6. doi: 10.1161/01.RES.0000200396.90220.41
2. *Belovol AM, Knyazkova II.* Serdechno-sosudictye zabolevaniya i saharnyi diabet/ Health Ua J. 2014;3(27):28-29. Available from: <http://repo.knmu.edu.ua/handle/123456789/8535> [In Russian].
3. *Senger DR.* Vascular endothelial growth factor: much more than an angiogenesis factor. *Mol Biol Cell.* 2010;21:377–9. doi: 10.1091/mbc.E09-07-0591
4. *Semenovych P. S., Topchii I. I., Shcherban T. D., Masiy V. V., Kirienko A. N., Yakimenko Yu. S.* Left ventricle structural and functional peculiarities in patients with diabetic nephropathy. *Ukr J Med Biol Sport.* 2018;3(7):154-8. doi: 10.26693/jmbs03.07.154 [In Ukrainian].
5. *Topchii I. I., Semenovych P. S., Galchinskaya V. Yu., Shcherban T. D., Yakimenko Yu. S.* Renal functional reserve in patients with type 2 diabetes mellitus. *Exper Clin Med.* 2018;2-3(79-80):88-93. Available from: http://nbuv.gov.ua/UJRN/eikm_2018_2-3_15 [In Ukrainian].
6. *Gavrilenko TI, Ryzhkova NA, Parkhomenko AN.* Vascular endothelial growth factor in the clinic of internal diseases and its pathogenetic value. *Ukr Cardiology J.* 2011;4:87-95. Available from: http://journal.ukrcardio.org/wp-content/uploads/2011/04/14_4_2011.pdf [In Russian].
7. *Schlingemann RO, Van Noorden CJ, Diekmann MJ, et al.* VEGF levels in plasma in relation to platelet activation, glycemic control, and microvascular complications in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2013;36:1629–34. doi: 10.2337/dc12-1951
8. *Zhang Q., W. Fang, L. Ma, Z.-D. Wang, Y.M. Yang, Y.-Q. Lu.* VEGF levels in plasma in relation to metabolic control, inflammation, and microvascular complications in type-2 diabetes. *Medicine* (Baltimore). 2018;97(15):415. doi: 10.1097/MD.0000000000010415
9. *Zorena K., Mys'liwska J., Mys'liwiec M. et al.* Association between vascular endothelial growth factor and hypertension in children and adolescents type I diabetes mellitus. *J Hum Hypert.* 2010;24:755-62. doi: 10.1038/jhh.2010.7
10. *Trape J.C., Morales R., Molina X. et al.* Vascular endothelial growth factor serum concentrations in hypercholesterolemic patients. *Scand J Clin Lab Invest.* 2006;663:261-7. doi: 10.1080/00365510600564949
11. *Suzuki H., Murakami M., Shoji M. et al.* Hepatocyte growth factor and vascular endothelial growth factor in ischemic heart disease. *Coron Artery Dis.* 2003;14:301-7. doi: 10.1097/00019501-200306000-00005
12. *Shen M., Gao J., Jianan Li J., Su J.* Effect of ischaemic exercise training of a normal limb on angiogenesis of a pathological ischaemic limb in rabbits. *CI Science.* 2009;117:201-8. doi: 10.1042/CS20080212
13. *Veron D, Bertuccio CA, Marlier A. et al.* Podocyte vascular endothelial growth factor (Vegf164) overexpression causes severe nodular glomerulosclerosis in a mouse model of type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2011;54:1227–41. doi: 10.1007/s00125-010-2034-z
14. *Mahdy RA, Nada WM, Hadhoud KM, et al.* The role of vascular endothelial growth factor in the progression of diabetic vascular complications. *Eye.* 2010;24:1576–84. doi: 10.1038/eye.2010.86
15. *Gurley SB, Coffman TM.* The renin-angiotensin system and diabetic nephropathy. *Semin Nephrol.* 2007;27:144–52. doi: 10.1016/j.seminephrol.2007.01.009
16. *Liu CX, Hu Q, Wang Y, et al.* Angiotensin-converting enzyme (ACE) 2 overexpression ameliorates glomerular injury in a rat model of diabetic nephropathy: a comparison with ACE inhibition.

- Mol Med. 2011;17:59–69. doi: 10.2119/mol-med.2010.00111
17. Nakagawa T. Uncoupling of VEGF with NO as a mechanism for diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008;82(1):67–69. doi: 10.1016/j.diabres.2008.09.030
 18. Karalliedde J, Gnudi L. Endothelial factors and diabetic nephropathy. *Diabetes Care.* 2011;34(2):291–6. doi: 10.2337/dc11-s241
 19. Chen J, Gu Z, Wu M, et al. C-reactive protein can upregulate VEGF expression to promote ADSC-induced angiogenesis by activating HIF-1alpha via CD64/PI3k/Akt and MAPK/ERK signaling pathways. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7:114. doi: 10.1186/s13287-016-0377-1
 20. Tian Y, Li JL, Hao L, et al. Association of cytokines, high sensitive C-reactive protein, VEGF and beta-defensin-1 gene polymorphisms and their protein expressions with chronic periodontitis in the Chinese population. *Int J Biol Markers.* 2013;28:P.100–7. doi: 10.5301/jbm.5000010
 21. Fioretto P, Mauer M. Histopathology of diabetic nephropathy. *Semin Nephrol.* 2007;27:195–207. doi: 10.1016/j.semnephrol.2007.01.012
 22. Veron D, Tufro A. VEGF and podocytes in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2012;32(4):385–93. doi: 10.1016/j.semnephrol.2012.06.010