

ЕКСПРЕСІЯ МОЛЕКУЛ МІЖКЛІТИННОЇ АДГЕЗІЇ (ICAM-1) ТА ЇХ РЕЦЕПТОРІВ (CD11 β -ІНТЕГРИН) ПРИ ДІАБЕТИЧНІЙ НЕФРОПАТІЇ

ДУ «Національний інститут терапії ім. Л. Т. Малої НАМН України»,

(м. Харків)

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Розробити методи оптимізації лікування діабетичної нефропатії на підставі визначення впливу медіаторів запалення вісфатину та моноцитарного хемоатрактантного протеїну на функціональний стан нирок», № держ. реєстрації 0112U001096

Вступ. Патологічні механізми розвитку діабету та його ускладнень, зокрема діабетичної нефропатії (ДН), включають розвиток каскаду реакцій запалення, ендотеліальну дисфункцію та прокоагулянтний дисбаланс [10, 11]. Ведеться активний пошук біомаркерів, які б забезпечили ранню діагностику цих порушень та сприяли оптимізації їх лікування. Маркерами активації лейкоцитів та ендотеліальних клітин, що відіграють суттєву роль в патогенезі судинних ускладнень діабету і поєднаних з ним патологій, можуть бути молекули клітинної адгезії та їх рецептори. При дослідженні ролі молекул адгезії у розвитку нефропатій та інших ускладнень цукрового діабету основна увага приділяється представникам сімейств імунोगлобулінів (міжклітинним і поверхневим молекулам – ICAM-1,2,3 і VCAM-1) та їх рецепторам, зокрема інтегринам [1,3,6,8].

Зміна адгезивних характеристик є, очевидно, найбільш чутливою реакцією клітин, як на вплив патогенних факторів, так і на застосування ліків. Підвищення рівнів розчинних адгезивних молекул ICAM-1 відзначалось при обох типах цукрового діабету [3,8]. Більшість досліджень проведено на моделях тварин, проте отримані результати вже наводять реалізацію в клініці [2].

Метою даного дослідження стало вивчення експресії на моноцитах молекул міжклітинної адгезії (ICAM-1) та їх рецепторів (CD11 β -інтегрин) при ДН на різних стадіях захворювання.

Об'єкт і методи дослідження. Було обстежено 60 хворих на цукровий діабет 2-го типу з ДН на різних стадіях захворювання. Середній вік пацієнтів – (49,5 \pm 2,3) років. Групу контролю склали 14 здорових донорів, відповідного віку.

Моноцити виділяли з периферичної крові хворих і здорових осіб методом градієнтного центрифугування. Кількість антиген позитивних клітин оцінювали непрямим імунцитохімічним методом з використанням моноклональних антитіл до

антигенів ICAM-1 (CD54) та β -субодиниці інтегрину (CD11 β) (ТОВ «Сорбент», Москва).

Статистичну обробку проводили за допомогою комп'ютерної програми «Microsoft Excel». Перевірку розподілу даних на відповідність нормальному закону проводили з використанням методу Шапіро-Уїлко. Статистичні гіпотези про різницю середніх перевіряли за допомогою критерію Стьюдента для рівня значимості $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Проведене нами дослідження експресії ICAM-1 (CD54) моноцитами у хворих на ДН показало суттєве зростання кількості CD54-позитивних клітин в порівнянні з групою контролю (**рис. 1**).

При вивченні експресії ICAM-1 на моноцитах в залежності від стадії ДН нами були отримані наступні результати: рівень CD54+ клітин підвищувався вже на ранніх стадіях ДН та перевищував контрольні значення в 1,3 рази (**рис. 1**). При прогресуванні захворювання спостерігалось більш виразне збільшення показника в 1,8 рази.

Отримані результати певною мірою узгоджуються з даними щодо підвищення рівнів розчинних адгезивних молекул ICAM-1, VCAM-1 та селективних при цукровому діабеті 2 типу [3, 5].

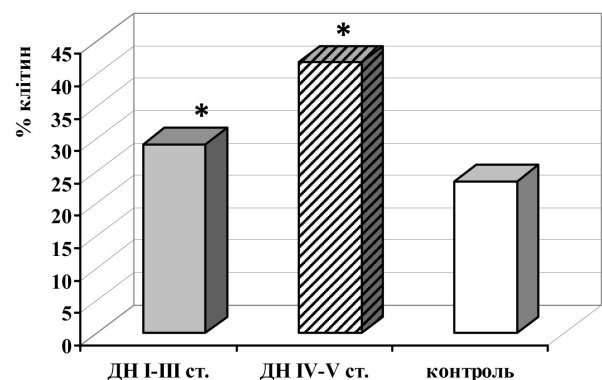


Рис. 1. Рівень експресії ICAM-1 (CD 54) на моноцитах периферичної крові хворих на ДН та здорових донорів.

Примітка: * – різниця між показниками у хворих та здорових статистично достовірна ($p < 0,05$).

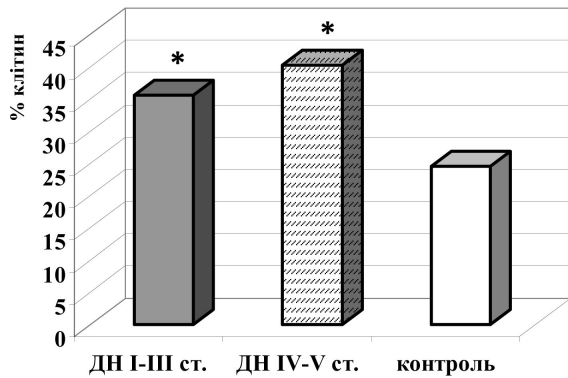


Рис. 2. Процентний вміст CD11b позитивних моноцитів у обстежених хворих та здорових донорів.

Примітка: * – різниця між показниками у хворих та здорових статистично достовірна ($p < 0,05$).

Найважливішими рецепторами для ICAM-1 є інтегрини (CD11/CD18-антигени), які асоціюються з функцією лейкоцитів, експресуються на всіх типах цих клітин, забезпечуючи їх функціональну активність. Інтегрини після транслокації на мембрану лейкоцитів зв'язуються з ICAM-1, iC3b та іншими лігандами, що є стимулом для руху клітин в екстравасальний простір, респіраторного вибуху фагоцитів і продукції цитокінів [4]. Таким чином інтегрини беруть участь у хемотаксисі й фагоцитозі, індукції респіраторного вибуху, адгезії гранулоцитів і макрофагів до судинної стінки. Експресія CD11/CD18 варіює залежно від типу клітин, ступеня їх активації і диференціювання.

Проведене нами дослідження адгезивних характеристик моноцитів виявило зростання експресії CD11 β -інтегрину на цих клітинах в усіх групах пацієнтів в порівнянні з контролем (рис. 2).

Дослідження експресії адгезивних молекул CD11 β та L-селектину на нейтрофілах периферичної крові, а також рівнів розчинних форм адгезивних

молекул та маркерів запалення у хворих на цукровий діабет в залежності від наявності мікроангіопатій виявило у хворих з мікроангіопатіями суттєве зростання як експресії CD11 β на нейтрофілах, так і рівнів розчинних молекул адгезії в периферичній крові [7,8,9]. На думку авторів, розвиток діабетичних мікроангіопатій безумовно пов'язаний з активацією нейтрофілів та інтенсифікацією їх адгезії і супроводжується зростанням рівнів в крові розчинних адгезивних молекул та маркерів запалення. Разом з тим показано, що здатність моноцитів та гранулоцитів модулювати експресію адгезивних молекул у відповідь на запалення значно погіршується при деяких захворюваннях, зокрема у пацієнтів на перитонеальному діалізі, більш того експресія рецепторів до ICAM-1 на лейкоцитах може не залежати від концентрації IL-8 та моноцитарного хемоатрактантного протеїну-1 [2].

В цілому, аналіз отриманих нами результатів та літературних даних показує, що активація й адгезія моноцитів сприяє виникненню ускладнень при цукровому діабеті, клініко-лабораторною ознакою яких може служити підвищення експресії молекул адгезії та їх рецепторів на клітинах.

Висновки. У хворих на діабетичну нефропатію вже на початкових стадіях хвороби має місце суттєве підвищення рівня експресії молекул міжклітинної адгезії (ICAM-1) та їх рецепторів (CD11 β) на моноцитах периферичної крові.

Прогресування захворювання супроводжується подальшим зростанням кількості клітин, що експресують ICAM-1 та CD11 β -інтегрин.

Порушення експресії молекул адгезії та їх рецепторів може відігравати визначальну роль в патогенезі нефропатії при цукровому діабеті.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні взаємозв'язку експресії адгезивних молекул та продукції медіаторів запалення на різних стадіях діабетичної нефропатії та в динаміці лікування.

Література

1. Bruce L. Cyclic Stretching of Mesangial Cells Up-Regulates Intercellular Adhesion Molecule-1 and Leukocyte Adherence A Possible New Mechanism for Glomerulosclerosis / L. Bruce, J. Varani, P. Cortes [et al.] // American Journal of Pathology. – 2001. – Vol. 158. – P. 11-17.
2. Dadfar E. Leukocyte CD11b and CD62l expression in response to interstitial inflammation in CAPD patients / E. Dadfar, J. Lundahl, E. Fernvik [et al.] // Perit. Dial. Int. – 2004. – Vol. 24 (1). – P. 28-36.
3. Elhadd T. A. Elevated soluble cell adhesion molecules E-selectin and intercellular cell adhesion molecule-1 in type-2 diabetic patients with and without asymptomatic peripheral arterial disease / T. A. Elhadd, G. Kennedy, R. Robb [et al.] // Int. Angiol. – 2004. – Vol. 23 (2). – P. 128-133.
4. Goldberg R. B. Cytokine and cytokine-like inflammation markers, endothelial dysfunction, and imbalanced coagulation in development of diabetes and its complications / R. B. Goldberg // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2009. – Vol. 94 (9). – P. 3171-3182.
5. Kent J. W. Intercellular Adhesion Molecule-1 Concentration Is Genetically Correlated With Insulin Resistance, Obesity, and HDL Concentration in Mexican Americans / J. W. Kent, A. G. Comuzzie, M. C. Mahaney [et al.] // Diabetes. – 2004. – Vol. 53. – P. 2691-2695.
6. Liberek T. Transmigration of blood leukocytes into the peritoneal cavity is related to the upregulation of ICAM-1 (CD54) and Mac-1 (CD11b/CD18) adhesion molecules / T. Liberek, M. Chmielewski, M. Lichodziejewska-Niemierko [et al.] // Perit. Dial. Int. – 2004. – Vol. 24 (2). – P. 139-146.
7. Mastej K. Neutrophil surface expression of CD11b and CD62L in diabetic microangiopathy / K. Mastej, R. Adamiec // Acta Diabetol. – 2008. – Vol. 45(3). – P. 183-190.

8. Sampson M. J. Monocyte and neutrophil adhesion molecule expression during acute hyperglycemia and after antioxidant treatment in type 2 diabetes and control patients / M. J. Sampson, I. R. Davies, J. C. Brown [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2002. – Vol. 22 (7). – P. 1187-1193.
9. Sokup A. Adhesion molecules in type 2 diabetes / A. Sokup // *Przegl. Lek.* – 2005. – Vol. 62 (4). – P. 234-237.
10. Williams T. M. Macrophages in renal development, injury, and repair / T. M. Williams, M. H. Little, S. D. Ricardo // *Semin. Nephrol.* – 2010. – Vol. 30 (3). – P. 255-267.
11. Wu T. Cardiovascular disease in diabetic nephropathy patients: cell adhesion molecules as potential markers? / T. Wu, K. C. McGrath, A. K. Death // *Vasc. Health Risk Manag.* – 2005. – Vol. 1 (4). – P. 309-316.

УДК 616.61:616.379-008.64-092

ЕКСПРЕСІЯ МОЛЕКУЛ МІЖКЛІТИННОЇ АДГЕЗІЇ (ICAM-1) ТА ЇХ РЕЦЕПТОРІВ (CD11 β -ІНТЕГРИН) ПРИ ДІАБЕТИЧНІЙ НЕФРОПАТІЇ

Гальчинська В. Ю., Топчий І. І., Семенових П. С., Єфімова Н. В., Щербань Т. Д.

Резюме. Мета роботи – вивчення експресії молекул міжклітинної адгезії (ICAM-1) та їх рецепторів (CD11 β -інтегрину) у хворих на діабетичну нефропатію (ДН) на різних стадіях захворювання. Дослідження виконували на ізольованих моноцитах виділених з периферичної крові пацієнтів та здорових донорів. У хворих на ДН вже на початкових стадіях хвороби має місце суттєве підвищення рівня експресії молекул міжклітинної адгезії (ICAM-1) та їх рецепторів (CD11 β) на моноцитах периферичної крові. Прогресування захворювання супроводжується подальшим зростанням кількості антиген-позитивних клітин. Порушення експресії адгезивних молекул та їх рецепторів може сприяти виникненню та прогресуванню ускладнень цукрового діабету, зокрема ДН.

Ключові слова: діабетична нефропатія, молекули міжклітинної адгезії, ICAM-1, CD11 β -інтегрин.

УДК 616.61:616.379-008.64-092

ЭКСПРЕССИЯ МОЛЕКУЛ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ (ICAM-1) И ИХ РЕЦЕПТОРОВ (CD11 β -ИНТЕГРИН) ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ

Гальчинская В. Ю., Топчий И. И., Семеновых П. С., Ефимова Н. В., Щербань Т. Д.

Резюме. Цель работы – изучение экспрессии молекул межклеточной адгезии (ICAM-1) и их рецепторов (CD11 β -интегрин) у больных диабетической нефропатией (ДН) на разных стадиях заболевания. Исследование выполняли на изолированных моноцитах периферической крови пациентов и здоровых доноров. У больных ДН уже на начальных стадиях болезни имеет место существенное повышение уровня экспрессии молекул межклеточной адгезии (ICAM-1) и их рецепторов (CD11 β) на моноцитах периферической крови. Прогрессирование заболевания сопровождается дальнейшим ростом количества антиген-положительных клеток. Нарушение экспрессии адгезивных молекул и их рецепторов может способствовать возникновению и прогрессированию осложнений сахарного диабета, в частности ДН.

Ключевые слова: диабетическая нефропатія, молекулы межклеточной адгезии, ICAM-1, CD11 β -интегрин.

UDC 616.61:616.379-008.64-092

Expression of Intercellular Adhesion Molecules (ICAM-1) and their Receptors (CD11 β -Integrin) in Diabetic Nephropathy

Galchinskaya V. Yu., Topchii I. I., Semenovych P. S., Efimova N. V., Scherban T. D.

Abstract. Many lines of evidence, ranging from in vitro experiments and pathological examinations to epidemiological studies, show that inflammation is a cardinal pathogenetic mechanism in diabetic nephropathy. Thus, modulation of inflammatory processes in the setting of diabetes mellitus is a matter of great interest for researchers today. The relationships between inflammation and the development and progression of diabetic nephropathy involve complex molecular processes.

Cell adhesion molecules and their receptors play an important role in the pathogenesis of vascular complications of diabetes, including diabetic nephropathy and are markers of leukocytes and endothelial cells activation.

Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) is one with major molecules promoters of leukocyte attachment to the vascular endothelium and their transmigration by its binding to β_2 -integrins on leukocyte cell surfaces. ICAM-1 upregulates and mediates macrophage infiltration in diabetic kidney tissues.

Violation of adhesion molecules expression on peripheral blood cells plays a significant role in the pathogenesis of many diseases such as septic shock, allergic diseases, endometriosis, hemolytic syndrome, rheumatoid arthritis, pathology of cardiovascular system. Increased levels of soluble ICAM molecules were noted in both types of diabetes.

The aim of this study was to investigate ICAM-1 (CD54) and the β -integrin subunit (CD11b) expression on monocytes from patients with diabetic nephropathy (DN).

We studied 60 patients with diabetic nephropathy at early and advanced stages of a disease. Diabetic groups were age- and sex-matched, had the same length of diabetes duration, and degree of glycemic control. Healthy nondiabetic volunteers of comparable age and sex (n = 14) formed the control group.

Monocytes were isolated from peripheral blood of patients and healthy subjects by gradient centrifugation. The number of antigen-positive cells was assessed by indirect immunoperoxidase method using monoclonal antibodies to antigens ICAM-1 (CD54) and β -integrin subunit (CD11 β) ("Sorbent", Moscow).

A study of the ICAM-1 (CD54) expression by monocytes in patients with DN showed a significant increase in CD54-positive cells compared to the control group. The expression of ICAM-1 on monocytes depended from the stage of DN. The level of CD54+ -cells increased in the early stages of DN and exceeded control values by 1.3. The progression of disease has a distinct increase in 1.8 times.

We estimated an essential increase of CD11 β expression on peripheral blood monocytes was found already at initial stages of DN. Progression of the disease was accompanied by further growth of antigen-positive cells quantity.

Overall, the analysis of our results and the literature shows that the activation and adhesion of monocytes contributes to complications of diabetes, particularly DN. Prospects for future research is to explore the relationship of the expression of adhesion molecules and production of inflammatory mediators at different stages of diabetic nephropathy and the dynamics of treatment.

Keywords: diabetic nephropathy, intercellular adhesion molecules, ICAM-1, CD11 β -integrin.

Рецензент – проф. Старченко І. І.

Стаття надійшла 21. 08. 2014 р.