

Порушення продукції моноцитарного хемоатрактантного протеїну у хворих із діабетичною нефропатією

І.І. Топчій*,
П.С. Семенових,
В.Ю. Гальчінська,
Ю.С. Якименко

ДУ «Інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України»

Резюме. Встановлено, що у хворих із діабетичною нефропатією (ДН) вже на початкових стадіях захворювання спостерігається суттєве зростання рівня моноцитарного хемоатрактантного протеїну-1 (МХП-1) у плазмі крові порівняно з контролем. Прогресування захворювання супроводжується подальшим зростанням концентрації МХП-1 у крові хворих із пізніми стадіями діабетичної нефропатії. Виявлене підвищення концентрації МХП-1 у плазмі крові хворих ДН може бути маркером розвитку запальних і склеротичних змін у нирковій тканині і обумовлює більш активне застосування в цієї категорії хворих специфічної протизапальної терапії.

Ключові слова: моноцитарний хемоатрактантний протеїн-1, діабетична нефропатія.

В останні кілька десятиліть цукровий діабет (ЦД) прийняв масштаби всесвітньої неінфекційної епідемії. Основною причиною інвалідизації та смертності хворих на діабет є ангіопатії. Діабетична нефропатія (ДН) – специфічне ураження нирок при ЦД – одна з найчастіших причин розвитку термінальної ниркової недостатності, симптоматичної артеріальної гіпертонії і, як наслідок, інвалідизації і смертності хворих [1]. В останні роки питання щодо механізмів розвитку ДН, розробки нових методів діагностики й адекватного лікування цього захворювання є сферою інтенсивних досліджень нефрологів усього світу.

Згідно з сучасною теорією прогресування ДН, імунна активація і системне запалення є маркерами несприятливого прогнозу і високого ризику розвитку хронічної ниркової недостатності [2]. Проникнення імунокомпетентних клітин, а саме моноцитів/макрофагів у клубочки має місце вже на ранніх стадіях ДН та вносить безпосередній внесок у розвиток гломерулярних уражень [2,3]. Макрофаги сприяють структурним змінам гломерул внаслідок гіперпродукції протеолітичних ферментів та факторів росту, викликають ремоделювання клубочків та порушення їх функції [4]. Одним з агентів, що сприяє надходженню моноцитів із кровоносного русла в ниркову тканину та їх акумуляції, є моноцитарний хемоатрактантний протеїн-1 (МХП-1). МХП-1 – це потужний хемокін, який проявляє найбільш виразний хемотаксичний ефект

* адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України», пр. Леніна, 4, м. Харків, 61022, Україна; e-mail: zdovado@ukr.net

Оригінальні дослідження

щодо моноцитів і Т-лімфоцитів. Окрім забезпечення трансміграції циркулюючих моноцитів у тканини, МХП-1 характеризується цілим спектром ефектів на ці клітини, який включає як індукцію секреції супероксид-аніона та цитокінів, так і стимуляцію експресії адгезивних молекул. Біосинтез МХП-1 відбувається в моноцитах, ендотеліальних, мезангіальних і гладком'язових клітинах під впливом цитокінів і окислених ліпопротеїдів низької щільності [5]. Нещодавно було показано, що останні присутні в значній кількості в крові хворих на ЦД та здатні істотно стимулювати продукцію МХП-1 ендотеліальними клітинами. В експериментальних роботах із моделювання стрептозотоцин-індукованого ЦД у щурів було показано, що розвиток ДН супроводжується посиленням експресії МХП-1 мезангіальними клітинами. При дослідженні цього хемокину в організмі людини було виявлено значне збільшення його концентрації в плазмі крові хворих із початковими ознаками нефропатії при ЦД 1 типу. Важливо, що підвищення гломерулярної експресії МХП-1 було виявлене при різних нефропатіях. Зокрема в останніх дослідженнях виявлено зростання продукції МХП-1 при люпус-нефриті, різних формах гломерулонефриту і нирковій недостатності [6]. F. Chiarelli вказує, що біосинтез МХП-1 при нирковій патології значно зростає під впливом прозапальних інтерлейкінів, що спричиняє моноцитарну інфільтрацію гломерул [7]. Дослідження МХП-1 при патології нирок визначають його важливу роль у реакціях запалення і прогресуванні ренальної дисфункції, але кількість робіт стосовно ЦД дуже обмежена. Крім того, роботи, присвячені МХП-1, в основному мають експериментальний характер, і лише поодинокі дослідження стосуються оцінки його клінічного значення. Щодо вивчення ролі даного медіатора в патогенезі ДН, то подібні дослідження в доступній літературі нечисленні і відомості, представлені в них, досить суперечливі. Отже, вивчення вмісту МХП-1 у хворих із різними стадіями ДН, з одного боку, розширить сучасні уявлення про патофізіологічні механізми розвитку цього захворювання, а з іншого – може мати науково-практичне значення, що дозволить визначати тактику лікування хворого й прогнозувати динаміку розвитку патологічного процесу.

У зв'язку з вищевикладеним, метою дослідження було визначення вмісту МХП-1 у пе-

риферичній крові хворих на ЦД 2 типу з ДН різного ступеня тяжкості.

Матеріали та методи

Під спостереженням знаходилося 76 хворих на ЦД 2 типу з ДН різного ступеня тяжкості. Хворі перебували на обстеженні та лікуванні у відділі нефрології ДУ «Інститут терапії ім. Л.Т. Малої НАМН України». Серед обстежених було 36 чоловіків і 40 жінок, середній вік пацієнтів – $54,3 \pm 9,2$ роки.

Діагноз і стадію ДН було встановлено відповідно до класифікації Mogensen С.Е. (1983 р.) на підставі загальноклінічних методів обстеження: клінічних аналізів крові і сечі, глікемічного профілю, визначення мікроальбумінурії, протеїнурії, визначення рівня креатиніну і сечовини в крові і сечі, ультразвукового дослідження паренхіми нирок, вимірювання артеріального тиску.

Хворі були розподілені на групи залежно від ступеня ураження нирок. Так, у першу групу включено 41 особу з початковими доклінічними стадіями захворювання – ДН I-III стадій за Mogensen. Друга група складалася з 35 хворих із вираженими клінічними проявами ураження нирок: протеїнурією та порушенням азотовидільної функції – ДН IV-V стадій. Контрольна група складалася із 10 практично здорових осіб.

Із дослідження виключали осіб із декомпенсацією ЦД, наявністю первинної патології нирок (сечокам'яної хвороби, інфекцій сечовивідних шляхів, уроджених аномалій сечовивідних шляхів і нирок), важкими захворюваннями печінки, злоякісними захворюваннями, захворюваннями системи крові.

Дослідження мікроальбумінурії проводили з використанням тест-смужок «Мікроальбуфан» («Pliva-Lachema Diagnostika», Чехія). Визначення протеїнурії проводили методом Робертса-Стольнікова.

Функцію нирок оцінювали з урахуванням швидкості клубочкової фільтрації, яку обчислювали за формулою Кокрофта.

Концентрацію МХП-1 визначали методом імуноферментного аналізу з використанням тест-системи виробництва фірми «INVITROGEN» (США). В якості індикаторного ферменту застосовували пероксидазу хрону. Діапазон концентрацій, що вимірюються, становив від 0 до 1000 нг/мл.

Статистичну обробку проводили за допомогою комп'ютерних програм «SPSS 13», «Microsoft Excel 2000». Статистичні гіпотези про різницю середніх перевіряли, використовуючи непараметричний критерій Манна-Уїтні. Вірогідними вважали розбіжності при $p < 0,05$. Дані представлені як середнє значень, що вимірювали у двох паралельних пробах (M), і стандартна помилка (m).

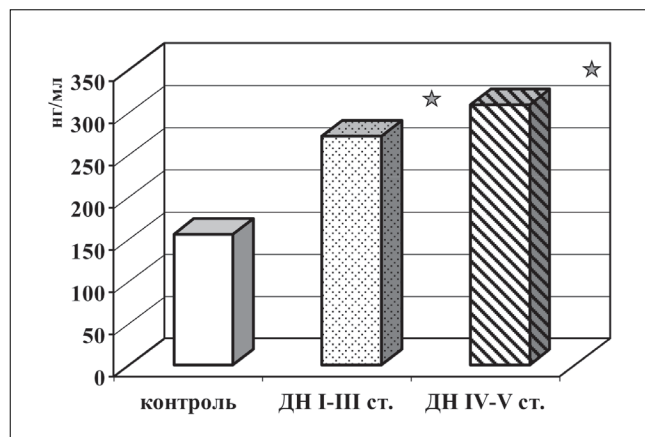
Для оцінки міри залежності між вибірками також використовували непараметричні методи статистики (коефіцієнт рангової кореляції Спірмена).

Результати та їх обговорення

Як показали результати дослідження, при ДН вже на початкових стадіях захворювання, коли клінічні ознаки хвороби ще не були виражені, суттєво (на 76%) зростає рівень МХП-1 у плазмі крові хворих порівняно з контролем. Так, рівень даного медіатора у хворих із ДН I-III стадій становив $272,18 \pm 20,32$ нг/мл й $155,12 \pm 16,42$ нг/мл, відповідно (рис.).

Прогресування захворювання супроводжувалось ще більшим зростанням досліджуваного агента в крові хворих із вираженими клінічними проявами ураження нирок: протеїнурією та нирковою недостатністю (ДН IV-V стадій). Зокрема в даній групі вміст МХП-1 у плазмі крові зростає на 98% порівняно з контролем і становив $309,94 \pm 26,48$ нг/мл. Таке суттєве зростання МХП-1 у групі хворих із пізніми стадіями ДН ймовірно є наслідком тривалого запального процесу в нирках та активації моноцитарної ланки імунітету. Крім того, суттєве

Рисунок. Рівні МХП-1 у плазмі крові хворих та здорових донорів



Примітка. * – вірогідно порівняно з контролем (здорові донори), $p < 0,05$.

значення в зростанні рівня МХП-1 може мати вплив цілої низки факторів прогресування ДН: гіпертонії, протеїнурії та азотемії. Зокрема останнє знайшло підтвердження при проведенні кореляційного аналізу.

Так, було виявлено достовірний кореляційний зв'язок між ступенем протеїнурії та рівнем МХП-1 у плазмі крові хворих (табл.). Даний факт вказує на те, що протеїнурія, як патологічний чинник прогресування захворювання, сприяє розвитку запальних процесів у нирках та судинному руслі шляхом впливу на продукцію МХП-1. Цей хемокін, у свою чергу, також може запускати каскад запальних реакцій та посилювати екскрецію протеїну нирками.

У нашому дослідженні встановлено прямий кореляційний зв'язок рівня креатиніну в крові та зворотний кореляційний зв'язок швидкості клубочкової фільтрації з концентрацією МХП-1. Виявлені зв'язки свідчать, що рівень останнього певною мірою відображає функціональний стан нирок та може бути використаний як доповнення до традиційних методів обстеження хворих.

Отримані нами результати узгоджуються з даними [8], згідно з якими продукція МХП-1 підвищується при ДН. У цілому, аналіз літератури показав, що кількість даних відносно ролі МХП-1 при ДН досить нечисленна, а більшість робіт носить експериментальний характер. Підвищені рівні МХП-1 спостерігаються при інсулінрезистентних станах, асоційованих з ожирінням, гіпертензією і діабетом [5,6]. Крім того, зростання МХП-1 є невід'ємною ознакою порушення ниркової функції при моделюванні ЦД, гіпертонії та нефропатії у експериментальних тварин [9,10]. На клітинних моделях показано, що продукти прискореного глікозування стимулюють продукцію МХП-1 мезангіальними клітинами нирок. У хворих на інсулінзалежний ЦД концентрація МХП-1 у сечі корелювала з рівнями альбумінурії та глікозильованого гемоглобіну [8]. На даний час про-

Таблиця. Кореляційні взаємозв'язки рівня МХП-1 з основними показниками функціонального стану нирок у хворих на ДН

Показник	Коефіцієнт кореляції, r	Вірогідність, p
Протеїнурія, г/л	+ 0,62	< 0,05
Креатинін, мкмоль/л	+ 0,74	< 0,01
ШКФ, мл/хв./1,73м ²	- 0,56	< 0,05

Оригінальні дослідження

водяться інтенсивні пошуки зв'язку розвитку ДН із МХП-1, але отриманих результатів ще недостатньо.

Особливої уваги заслуговує той факт, що ДН є захворюванням, для якого документально підтверджено зворотний розвиток експансії мезангіального матриксу у випадках успішної трансплантації підшлункової залози або трансплантації діабетичної нирки реципієнту без діабету. Не виключено, що зниження активності МХП-1 може сприяти не тільки уповільненню прогресування захворювання нирок, але навіть може ініціювати його регресію.

Важливі результати отримані в кількох експериментальних роботах, виконаних на трансгенних тваринах. Показано, що гризуни з генетично детермінованим дефіцитом або відсутністю МХП-1 та його рецептора CCR2 значно менше схильні до розвитку процесів запалення та ниркового склерозу і фіброзу, ніж тварини з незміненим генотипом. У численних експериментальних моделях було виявлено, що хронічний гломерулонефрит, ЦД, токсична нефропатія в МХП-дефіцитних тварин супроводжувались меншими склеротичними змінами в нирках та менш вираженою альбумінурією порівняно зі звичайними тваринами. Отже, багатий експериментальний досвід підтверджує важливу роль МХП-1 у патогенезі нефропатій [5,9].

Таким чином, беручи до уваги власні результати та з оглядом на досвід інших дослідників, можна впевнено говорити про МХП-1 як про потужний хемокін, що бере безпосередню участь у патогенезі ДН. Блокада даного медіатора запалення є важливим підходом до пошуку нових терапевтичних заходів, які впливатимуть на прогресування ниркових уражень при ЦД.

Отримані результати дослідження переконливо свідчать про доцільність використання такого показника цитокінового спектру крові як рівень МХП-1 в якості об'єктивного критерію активності запального процесу ДН та контролю ефективності терапії.

Висновки

1. У хворих на цукровий діабет із ДН вже на початкових стадіях хвороби виявлено суттєве підвищення рівня МХП-1 у плазмі крові на 76% порівняно з контролем, що призводить до активації моноцитів та може

сприяти розвитку запальних та склеротичних процесів у нирках.

2. Прогресування захворювання супроводжується виразнішим (на 99%) зростанням МХП-1 у крові хворих на ДН із вираженими клінічними проявами ураження нирок (протеїнурія та ниркова недостатність) порівняно з контролем.
3. Встановлено прямий кореляційний зв'язок концентрації МХП-1 із рівнями альбуміну в сечі й креатиніну в крові та зворотний кореляційний зв'язок зі швидкістю клубочкової фільтрації.
4. Виявлене збільшення концентрації МХП-1 у плазмі крові хворих на ДН може бути маркером виникнення і розвитку запальних та склеротичних змін у нирковій тканині та обумовлює більш активне застосування в даній категорії хворих специфічної проти-запальної терапії.

Список використаної літератури

1. Дудар І.О., Мюнталь О.М. Діабетична нефропатія та фактори її прогресування // Укр. журн. нефрол. діал. 2006, № 1(8), 35-38.
2. Eddy A.A. Progression in chronic kidney disease // Adv. Chronic Kidney Dis. 2005, 12, 353-365.
3. Williams T.M., Little M.H., Ricardo S.D. Macrophages in renal development, injury, and repair // Semin. Nephrol. 2010, 30(3), 255-267.
4. Vernon M.A., Mylonas K.J., Hughes J. Macrophages and renal fibrosis // Semin. Nephrol. 2010, 30(3), 302-317.
5. Tesch G.H. MCP-1/CCL2: a new diagnostic marker and therapeutic target for progressive renal injury in diabetic nephropathy // Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2008, 294, 697-701.
6. Giunti S., Barutta F., Perin P.C., Gruden G. Targeting the MCP-1/CCR2 System in diabetic kidney disease // Curr. Vasc. Pharmacol. 2010, 8(6), 849-860.
7. Chiarelli F., Cipollone F., Mohn A. et al. Circulating monocyte chemoattractant protein-1 and early development of nephropathy in type 1 diabetes // Diabetes Care. 2002, 25, 1829-1834.
8. Takebayashi K., Matsumoto S., Aso Y., Inukai T. Association between circulating monocyte chemoattractant protein-1 and urinary albumin excretion in nonobese Type 2 diabetic patients // J. Diabetes Complications. 2006, 20(2), 98-104.
9. Chow F.Y., Nikolic-Paterson D.J., Ma F.Y. et al. Monocyte chemoattractant protein-1-induced tissue inflammation is critical for the development of renal injury but

not type 2 diabetes in obese db/db mice // *Diabetologia*. 2007, 50, 471-480.

10. Matsushita Y., Ogawa D., Wada J. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor delta inhibits streptozotocin-induced diabetic nephropathy through anti-inflammatory mechanisms in mice // *Diabetes*. 2011, 60(3), 960-968.

Надійшла 12.03.2013

Нарушение продукции моноцитарного хемоаттрактантного протеина у больных с диабетической нефропатией

И.И. Топчий, П.С. Семеновых, В.Ю. Гальчинская, Ю.С. Якименко

ГУ «Институт терапии им. Л.Т. Малой НАМН Украины»

Резюме. Установлено, что у больных диабетической нефропатией (ДН) уже на начальных стадиях болезни имеет место существенное повышение уровня МХП-1 в плазме крови в сравнении с контролем. Прогрессирование заболевания сопровождается дальнейшим ростом концентрации МХП-1 в крови больных с поздними стадиями ДН. Выявленное повышение концентрации МХП-1 в плазме крови больных ДН может быть маркером развития воспалительных и склеротических изменений в почечной тка-

ни и обуславливает более активное применение у данной категории больных специфической противовоспалительной терапии.

Ключевые слова: моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1, диабетическая нефропатия.

Disturbances in monocyte chemoattractant protein production in patients with diabetic nephropathy

I.I. Topchij, P.S. Semenovych, V.Yu. Galchinskaya, Yu.S. Yakimenko

State Institution "L.T. Malaya Institute of Therapy, Natl Acad. Med. Sci of Ukraine"

Summary. Our data showed that diabetic nephropathy (DN) is accompanied by significant growth of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in blood plasma of patients with the initial stages of the disease. Progressing of the disease went along with the further increase of MCP-1 concentration in patients with advanced stages of DN. The revealed increase of MCP-1 blood plasma level in patients with DN may be a marker of inflammatory and sclerotic changes in renal tissue and causes more active application of specific anti-inflammatory therapy for these patients.

Keywords: monocyte chemoattractant protein-1, diabetic nephropathy.