

# ОСОБЛИВОСТІ СЕКРЕЦІЇ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1 $\beta$ У ХВОРИХ НА ДІАБЕТИЧНУ НЕФРОПАТІЮ

*П.С. Семенових*

*ДУ «Інститут терапії імені Л.Т. Малої АМН України», Харків*

**Ключові слова:** діабетична нефропатія, інтерлейкін, моноцити, нефропротекторна терапія.

Діабетична нефропатія (ДН) — специфічне ураження нирок при цукровому діабеті — одна з найчастіших причин розвитку термінальної ниркової недостатності, симптоматичної артеріальної гіпертензії і, як наслідок, інвалідизації та смертності хворих [1, 3]. Останніми роками питання механізмів розвитку, розроблення нових методів діагностики й адекватного лікування ДН є сферою інтенсивних досліджень нефрологів усього світу.

Згідно із сучасною теорією прогресування ДН імунна активація і системне запалення є маркерами несприятливого прогнозу та високого ризику розвитку хронічної ниркової недостатності [7, 10, 13]. Проникнення імунокomпетентних клітин, а саме моноцитів/макрофагів у клубочки спостерігається уже на ранніх стадіях ДН та безпосередньо впливає на розвиток гломерулярних уражень [5, 6]. Моноцитарна інфільтрація тканин нирок стимулює експансію мезангіальних клітин у міжкапілярний простір клубочка нирки, призводячи до гломерулосклерозу. Крім того, неспецифічна активація моноцитів/макрофагів у плазмі крові і міжтканинному просторі є індуктором синтезу прозапальних цитокінів, які своєю чергою визначають еволюцію гломерулосклерозу. Так, участь прозапальних інтерлейкінів (ІЛ) у прогресуванні ДН доведено як експериментальними даними дослідження біоптатів нирки, так і клінічними випробуваннями [4, 17, 18]. Особливе місце в цитокіновому ланцюгу розвитку захворювань нирок має секреторна форма ІЛ-1 — ІЛ-1 $\beta$ , який переважно продукується моноцитами [8, 9, 15].

Одним з агентів, що індукують секрецію цитокінів, є ангіотензин ІІ, концентрація якого підвищується при ДН. Гіперпродукція ангіотензину призводить до спазму еферентної артеріоли клубочка нирки, констрикції його мезангіальних клітин та підсиленого синтезу факторів росту [1, 11, 14]. Отже, зрозуміло, чому еталонною групою препаратів для лікування ДН визнано інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ). Такі позитивні ефекти цієї групи препаратів, як зменшення протеїнурії, зниження ризику розвитку ниркової недостатності й кардіоваскулярних ускладнень,

підтверджено численними дослідженнями [1]. Аналогічну дію мають і блокатори рецепторів ангіотензину ІІ. Однак попри багаторічний досвід застосування інгібіторів АПФ і блокаторів рецепторів ангіотензину ІІ в нефрології, даних про поєднане їх застосування при ДН і вплив на запальний компонент патогенезу захворювання бракує.

У зв'язку з викладеним вище, метою дослідження стало вивчення впливу інгібітора АПФ лізиноприлу й антагоніста рецепторів ангіотензину ІІ лосартану на продукцію ІЛ-1 $\beta$  у хворих на ДН.

## **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

Під спостереженням перебувало 82 хворих на цукровий діабет 2 типу, ускладнений ДН. Контрольну групу становили 10 практично здорових осіб. Серед обстежених було 38 чоловіків і 44 жінки, середній вік пацієнтів — (56,3  $\pm$  11,4) року. Тривалість цукрового діабету коливалася в межах від 3 до 31 року, у середньому 16, 2 року.

Діагноз і стадію ДН встановлено за класифікацією С.Е. Mogensen (1983) на підставі загальноклінічних методів обстеження (клінічні аналізи крові й сечі, глікемічний профіль, середньодобова глюкозурія, визначення мікроальбумінурії, рівня загального білка, визначення рівня креатиніну і сечовини в крові та сечі, ультразвукове дослідження паренхіми нирок, офтальмоскопічне дослідження очного дна, вимірювання артеріального тиску).

Початкові середні значення систолічного артеріального тиску становили 192/16 мм рт. ст., діастолічного — 106/12 мм рт. ст.

З дослідження виключали осіб із декомпенсацією цукрового діабету, первинною патологією нирок (сечокам'яна хвороба, інфекції сечовивідних шляхів, природжені аномалії сечовивідних шляхів і нирок), тяжкими захворюваннями печінки, зловиякісними утвореннями, захворюваннями системи крові.

Хворих було розподілено на дві групи. До 1-ї включено 44 пацієнти, що вживали антидіабетичні препарати, ефективність яких забезпечувала досягнення і підтримання задовільної компенсації цукрового діабету, та інгібітор АПФ моексіприл у

дозі 7,5—15 мг на добу. До 2-ї групи увійшли 38 пацієнтів, яким, крім антидіабетичної терапії, призначали комбінацію лізиноприлу і блокатора рецепторів до ангіотензину II лосартану. Добова доза моексіприлу становила 7,5 мг, лосартану — 25—50 мг. Рівень ІЛ в плазмі та моноцитах крові досліджували до призначення терапії і через 3 міс від початку лікування.

Моноцити виділяли з периферичної крові здорових донорів та хворих на ДН шляхом градієнтного центрифугування за методом Recalde [16]. В експериментах використовували суспензію мононуклеарних клітин, що містила не менше ніж 90% живих моноцитів. Контролем за життєздатністю клітин слугувало вітальне фарбування моноцитів трипановим синім.

Моноцити культивували в поліетиленових пластикових планшетах з діаметром лунок  $d = 20$  мм, за концентрації моноцитів  $1 \times 10^6$  клітин на лунку при температурі  $37^\circ\text{C}$  в інкубаційній суміші, що складалася із середовища 199 з додаванням 20 ммоль/л НЕРЕС, сироваткового альбуміну бика (1 мг/мл), 10% ембріональної сироватки теляти і антибіотиків (200 мкг/мл стрептоміцину та 100 Од/мл пеніциліну). Для стимулювання клітинної відповіді використано ангіотензин II ( $10^{-7}$  моль/л, Sigma, США). Через 18 год після додавання ангіотензину II забирали аліквоти інкубаційного середовища для визначення ІЛ-1 $\beta$ .

Рівні ІЛ-1 $\beta$  у плазмі крові та в культуральному середовищі моноцитів визначали за допомогою імуноферментного аналізу, використовуючи імуноферментні тест-системи «ProCon» (Санкт-Петербург, Росія).

Математичний аналіз метричних даних проводили з використанням варіаційної статистики за стандартними ліцензійними комп'ютерними програмами. Відмінності між групами середніх величин і їхні похибки ( $M \pm m$ ) оцінювали за допомогою критерію Стьюдента — Фішера. Достовірною вважалася ймовірна погрішність менше 5% ( $P < 0,05$ ).

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Як засвідчили результати дослідження, розвиток ДН супроводжується підвищенням ІЛ-1 $\beta$  у плазмі крові хворих (таблиця).

Так, було встановлено майже триразове підвищення рівня ІЛ-1 $\beta$  у плазмі крові хворих на ДН порівняно зі здоровими донорами. Збільшення рівня цього цитокіну, ймовірно, є наслідком тривалого запального процесу в нирках.

У динаміці монотерапії моексіприлом спостерігалася тенденція до зниження концентрації ІЛ-1 $\beta$  у плазмі крові хворих 1-ї групи. Додавання до лікування лосартану сприяло вірогідному зниженню концентрації цитокіну у хворих 2-ї групи ( $P < 0,05$ ).

Таким чином, застосування комплексного лікування з використанням антагоністів рецепторів до ангіотензину II призводить до зниження концентрації ІЛ-1 $\beta$  у плазмі крові хворих на ДН, що може зумовлювати їхній значний нефропротекторний ефект, оскільки ІЛ-1 $\beta$  спричинює запальні процеси в нирках, регулюючи міжклітинні взаємодії, проліферацію мезангію, експресію генів та викликаючи безліч змін на клітинному рівні [4, 10, 12].

Як зазначено вище, реалізація дії більшості головних неімунних факторів прогресування нефропатій (системна артеріальна гіпертензія, внутрішньоклубочкова гіпертензія, протеїнурія, гіперліпідемія, ішемія нирки тощо) пов'язана, незалежно від генезу хронічної хвороби нирок, з активацією ренін-ангіотензин-альдостеронової системи. Надлишкової активації останньої належить провідна роль у ремоделюванні міокарда судинної стінки та ниркової тканини. Ключовим медіатором цих процесів вважається саме ангіотензин II [2, 3, 11].

З урахуванням цього для стимуляції клітинної відповіді (секреція ІЛ-1 $\beta$  моноцитами) використано саме ангіотензин II.

Порівняно з контрольною групою спонтанна продукція ІЛ-1 $\beta$  моноцитами збільшилася у хворих на ДН (рис. 1). Так, у контрольній групі рівень ІЛ-1 $\beta$  у культуральному середовищі становив ( $378,3 \pm 39,4$ ) пг/мл, а при ДН — ( $970 \pm 74,6$ ) пг/мл. Після додавання в інкубаційне середовище ангіотензину II збільшувалася продукція ІЛ-1 $\beta$  у всіх досліджуваних групах, але для моноцитів хворих на ДН характерна більше виражена секреція цього цитокіну. Зокрема, індукована ангіотензином II секреція становила ( $725 \pm 79,2$ ) пг/мл у контрольній групі та ( $1780 \pm 94,4$ ) пг/мл — у моноцитах хворих. Таким чином, ДН супроводжується посиленням клітинної відповіді на ангіотензин II (секреція ІЛ-1 $\beta$ ).

Таким чином, у хворих на ДН порівняно з контрольною групою спостерігається зростання рівня ІЛ-1 $\beta$  у плазмі крові та активація його секреції моноцитами. Зростає як спонтанна секреція, так і індукована ангіотензином II.

Передбачається, що активація ренін-ангіотензинової системи, а саме гіперпродукція ангіотензину II, може індукувати розвиток запалення в нирковій тканині. Крім гемодинамічних ефектів, таких

Таблиця. Рівень ІЛ-1 $\beta$  у плазмі хворих на діабетичну нефропатію (ДН) у динаміці лікування

Показник	Контроль (n = 10)	Хворі на ДН до лікування (n = 82)	Хворі на ДН після лікування	
			1-ша група (n = 44)	2-га група (n = 38)
ІЛ-1 $\beta$ , пг/мл	$18,5 \pm 1,6$	$48,8 \pm 4,1$	$41,5 \pm 3,4$	$30,8 \pm 3,1$
P		$< 0,01$	$> 0,05$	$< 0,05$

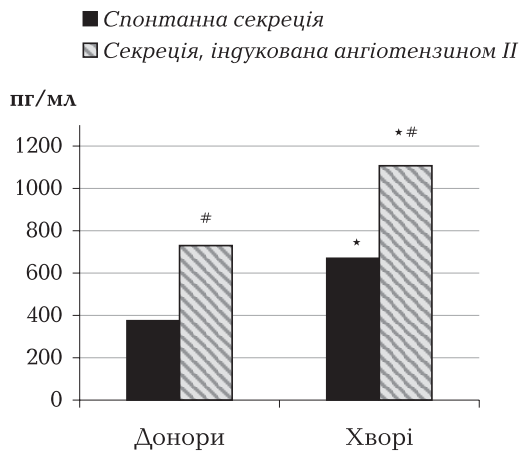


Рисунок. Спонтанна та індукована секреція ІЛ-1β моноцитами хворих на ДН

\* Вірогідно порівняно з контролем (здорові донори),  $P < 0,05$ .

# Вірогідно порівняно зі спонтанною секрецією,  $P < 0,05$ .

як констрикція еферентних артеріол клубочків і підвищення внутрішньоклубочкового тиску, ангіотензин має ще й низку негемодинамічних ефектів, що можуть впливати на прогресування гломерулосклерозу. При ДН цей агент може сприяти активації факторів росту, підсилювати продукцію речовини мезангіального матриксу (фібронектину,

колагену) та, як засвідчили наші дослідження, стимулювати секрецію ІЛ-1β моноцитами [1, 9, 18].

Цілкові імовірно, що фармакологічна блокада ренін-ангіотензинової системи інгібіторами АПФ і блокаторами рецепторів ангіотензину II нівелює негативні ефекти ангіотензину та ліквідує надмірну секрецію цитокінів, зумовлюючи нефропротекторний ефект цих груп препаратів.

### ВИСНОВКИ

1. Розвиток ДН у хворих на цукровий діабет супроводжується значним підвищенням вмісту ІЛ-1β у плазмі крові.

2. ДН супроводжується активацією секреторної функції моноцитів, що виявляється істотним підвищенням спонтанної та індукованої ангіотензином II продукції ІЛ-1.

3. Застосування комплексного лікування з використанням антагоніста рецепторів до ангіотензину II лосартану призводить до зниження концентрації ІЛ-1β у плазмі крові хворих на ДН, що може зумовлювати їхній значний нефропротекторний ефект.

4. Результати дослідження переконливо свідчать про доцільність використання показника цитокінового спектра крові, зокрема ІЛ-1β, як об'єктивного критерію активності запального процесу при нефритях.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дегов И.И., Шестакова М.В. Диабетическая нефропатия.— М.: Универсум паблишинг, 2000.— 239 с.
2. Мухин Н.А., Моисеев В.С., Кобалова Ж.Д. и др. Кардиоренальные взаимодействия: клиническое значение и роль в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы и почек // Тер. архив.— 2004.— № 6.— С. 39—46.
3. Шишкин А.Н. Факторы роста и гломерулосклероз при диабетической нефропатии // Нефрология.— 2005.— Т. 9, № 4.— С. 104—107.
4. Alexandraki K., Piperi C., Kalofoutis C. et al. Inflammatory process in type 2 diabetes: The role of cytokines // Ann. N.Y. Acad. Sci.— 2006.— Nov.— P. 1089—1117.
5. Cipolletta C., Ryan K.E., Hanna E.V., Trimble E.R. Activation of peripheral blood CD14 monocytes occurs in diabetes // Diabetes.— 2005.— Vol. 54.— P. 2779—2786.
6. Chow F.Y., Nikolic-Paterson D.J., Atkins R.C., Tesch G.H. Macrophages in streptozotocin-induced diabetic nephropathy: potential role in renal fibrosis // Nephrol. Dial. Transplant.— 2004.— Vol. 19.— P. 2987—2996.
7. Dalla Vestra M., Mussap M., Gallina P. et al. Acute-phase markers of inflammation and glomerular structure in patients with type 2 diabetes // J. Am. Soc. Nephrol.— 2005.— 16, Suppl. 1.— P. 78—82.
8. Devaraj S., Glaser N., Griffen S. et al. Increased Monocytic Activity and Biomarkers of Inflammation in Patients With Type 1 Diabetes // Diabetes.— 2006.— Vol. 55.— P. 774—779.
9. Galchinskaya V.Yu., Topchiy I.I., Kondakov I.K. et al. Angiotensin II and high glucose activation of the interleukin-1b secretion by kidney and monocytes // XLII Congress of European Renal Association, June 4—7, 2005.— Istanbul, Turkey, 2005.— P. 32.

10. Galkina E., Ley K. Leukocyte recruitment and vascular injury in diabetic nephropathy // J. Am. Soc. Nephrol.— 2006.— Vol. 17.— P. 368—377.

11. Jacobsen R., Tarnow L., Cartensen B., Hovind P. Genetic variation in the renin-angiotensin system and progression of diabetic nephropathy // J. Am. Soc. Nephrol.— 2003.— Vol. 14.— P. 2843—2850.

12. Lin L., Qi Z., Li-jin P., Xue-wei X. et al. Elevation of tumor necrosis factor, interleukin-1b and interleukin-6 levels in aortic intima of Chinese Guizhou minipigs with streptozotocin-induced diabetes // Chinese Med. J.— 2007.— Vol. 120, N 6.— P. 479—484.

13. Martin-Gallan P., Carrascosa A., Gussinye M., Dominguez C. Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications // Free Radic Biol. Med.— 2003.— Vol. 34.— P. 1563—1574.

14. Navarro J.F., Milena F.J., Mora C. et al. Renal pro-inflammatory cytokine gene expression in diabetic nephropathy: effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and pentoxifylline administration // Am. J. Nephrol.— 2006.— Vol. 26, N 6.— P. 562—570.

15. O'Connor J.C., Satpathy A., Hartman M.E. et al. IL-1 - Mediated innate immunity is amplified in the db/db mouse model of Type 2 Diabetes // J. Immunol.— 2005.— P. 4491—4497.

16. Recalde H.R. A simple method of obtaining monocytes in suspension // J. Immunol. Meth.— 1984.— Vol. 69, N 1.— P. 71—72.

17. Singh N.P., Banal R., Thakur A. et al. Effect of membrane composition on cytokine production and clinical symptoms during hemodialysis: a crossover study // Ren Fail.— 2003.— May; 25 (3)— P. 419—430.

18. Takano Y., Yamauchi K., Hayakawa K. et al. Transcriptional suppression of nephrin in podocytes by macrophages: roles of inflammatory cytokines and involvement of the PI3K/Akt pathway // FEBS Lett.— 2007.— Vol. 581, N 3.— P. 421—426.

### ОСОБЕННОСТИ СЕКРЕЦИИ ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 $\beta$ У БОЛЬНЫХ С ДИАБЕТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИЕЙ

**П.С. Семеновых**

Исследовано влияние нефропротекторной терапии на уровень интерлейкина-1 $\beta$  в плазме крови больных, а также секрецию этого цитокина изолированными моноцитами под воздействием ангиотензина II. В исследовании приняли участие 82 пациента с диабетической нефропатией. Установлено существенное повышение уровня интерлейкина-1 $\beta$  в плазме крови больных в сравнении со здоровыми донорами, а также усиление его продукции моноцитами в ответ на ангиотензин. Применение комплексного лечения с использованием антагонистов рецепторов к ангиотензину II приводит к снижению концентрации цитокина в плазме крови больных, что может обуславливать их нефропротекторное действие.

### THE PECULIARITIES OF INTERLEUKIN 1 $\beta$ SECRETION IN PATIENTS WITH DIABETIC NEPHROPATHY

**P.S. Semenovych**

The study has been held for the effects of nephroprotective therapy on the plasma levels of interleukin 1 $\beta$  and angiotensin II-stimulated secretion of this cytokine by blood-derived monocytes. The study was held on 82 patients with diabetic nephropathy. The substantial increase of blood plasma interleukin 1 $\beta$  levels in patients with diabetic nephropathy in comparison with healthy subjects was established as well as the intensifying of its monocyte production in response on angiotensin. The use of complex treatment including angiotensin II receptor blockers resulted in the reduction of the cytokine, and this effect may be the ground for nephroprotective of such therapy.