

Серумни антиколагенови тип IV IgM антитела и развитие на диабетна нефропатия при болни със захарен диабет тип 2 и артериална хипертония

Д-р Аспарух Николов¹, доц. Иван Цинликов¹, г-р Иванка Цинликова¹, доц. Георги Николов², г-р Лазар Гарев¹, Александър Блажев²

¹Катедра по пропедевтика на вътрешните болести, Медицински университет, Плевен

²Сектор „Биология“, Медицински университет, Плевен

Резюме

Въведение и цели: Задебеляването на базалната мембрана на капиллярите и малките съдове е добре позната находка и важен компонент в прогресията на диабетната микроангиопатия. Пациентите със захарен диабет (ЗД) и артериална хипертония (АХ) са в по-висок риск за развитие на съдова болест.

Материал и методи: За мониториране на метаболизма на основния базално-мембранен протеин-колаген тип IV (KIV) при пациенти със ЗД тип 2, както и за регистриране на серумните нива на антителата срещу KIV фрагменти от субкласовете IgG, IgM и IgA, беше използван ELISA методът при 93-ма пациенти със ЗД тип 2 и АХ (средна възраст 61.4 ± 11.3 години; продължителност на диабета 9.88 ± 3.12 г.; продължителност на хипертонията 9.28 ± 4.98 г.). Тези стойности бяха сравнени с тези на 42 възрастово и полови съвпадащи контроли. Диабетиците бяха разделени на две групи според наличието – група 1 ($n=67$), или отсъствието – група 2 ($n=26$) на микроангиопатия.

Резултати: Проведените изследвания показват, че серумните нива на анти-KIV IgM антитела при пациенти със ЗД тип 2 и АХ са по-високи спрямо контролната група, като тези стойности са сигнификантни $0.178 (0.145 \div 0.220)$ vs. $0.142 (0.118 \div 0.173)$ ($KW=6.31$; $p=0.01$). Група 1 (пациенти с микроаскуларни усложнения) показва сигнификантно по-високи стойности на анти-KIV IgM в сравнение със здравите контроли $0.180 (0.136 \div 0.223)$ vs. $0.142 (0.118 \div 0.173)$ ($KW=5.03$; $P=0.02$). Пациентите от група 2 показаха значимо завишение на изследвания показател спрямо контролите $0.176 (0.151 \div 0.202)$ vs. $0.142 (0.118 \div 0.173)$ ($KW=6.15$; $p=0.01$). Най-високи стойности на анти-KIV IgM се установиха при пациентите със съдови поражения (група 1).

Серумните анти-KIV IgM корелират с микроалбуминурията ($r=0.21$); ($p=0.04$), BMI ($r=0.19$); ($p=0.04$), креатининовия клирънс ($r=-0.36$); ($p=0.01$) и GFR ($r=-0.34$); ($p=0.02$).

Серумните анти-KIV IgG нива бяха по-високи при пациентите, отколкото при контролите, докато анти-KIV IgA нивата бяха по-високи при контролите, но разликите не са значими.

Изводи: Нашето проучване показва връзка между повишените серумни нива на анти-KIV IgM и развитието на диабетна нефропатия. Предполагаме, че определянето на серумните анти-KIV IgM антитела може да бъде полезен маркер за идентифициране на болни със ЗДТ2 и АХ, които са с висок риск за развитие на съдови увреждания.

Ключови думи: захарен диабет тип 2, артериална хипертония, антиколагенови IgM антитела, съдови увреждания, диабетна нефропатия

Serum anti-collagen type IV IgM antibodies and development of diabetic nephropathy in diabetics with essential hypertension

A. Nikolov¹, I. Tsinlikov¹, I. Tsinlikova¹, G. Nicoloff², L. Garev¹, A. Blazhev²

¹Department of Propedeutics of Internal Diseases, Medical University, Pleven

²Division of Biology, Medical University, Pleven

Abstract

Background and aims: Elastin and collagen are the main proteins of the vascular wall. Arterial hypertension and diabetic vascular complications are connected with an elevated degradation of elastic tissue. As a result collagen type IV derived peptides (CIVDP) are released in the circulated blood, which are a pathological stimulus for an increased production of antibodies to collagen type IV (ACIV Abs). In the present investigation we studied whether the serum levels of antibodies (IgG, IgM and IgA) to collagen are related with microvascular complications.

Material and methods: Serum levels of antibodies to collagen type IV (ACIV) IgG, IgM and IgA were measured using an ELISA method in 93 patients with type 2 diabetes mellitus and arterial hypertension (AH) (mean age 61.4 ± 11.3 years, diabetes duration 9.88 ± 3.12 years; hypertension duration 9.28 ± 4.98). These values were compared to serum antibodies to CIV in 42 age and sex matched controls. Diabetics were divided in two groups according to presence- Group 1 (n=67) or absence- Group 2 (n=26) of microangiopathy.

Results: ACIV IgM antibodies levels in patients with AH and T2DM were statistically significantly higher than controls $0.178 (0.145 \div 0.220)$ vs. $0.142 (0.118 \div 0.173)$ (KW=6.31; p=0.01). Group 1 (patients with microvascular complications) showed significantly higher levels of ACIV IgM than controls $0.180 (0.136 \div 0.223)$ vs. $0.142 (0.118 \div 0.173)$ (KW=5.03; P=0.02). Patients from Group 2 showed statistically significantly higher levels of ACIV IgM than controls $0.176 (0.151 \div 0.202)$ vs. $0.142 (0.118 \div 0.173)$ (KW=6.15; p=0.01).

ACIV IgM antibodies showed correlation with microalbuminuria ($r=0.21$); ($p=0.04$), BMI ($r=0.19$); ($p=0.04$), creatinine clearance ($r=-0.36$); ($p=0.01$) and GFR ($r=-0.34$); ($p=0.02$). Serum ACIV IgG levels were higher in patients than in controls, while serum ACIV IgA levels were lower than these in controls, but the differences are not statistically significant.

Conclusion: Our study showed an association between elevation of serum levels of ACIV IgM and development of diabetic nephropathy. Elevation of ACIV IgM can be related with later clinical manifestation of nephropathy. We suggest that levels of ACIV IgM can be useful method for identifying a high risk for development of diabetic nephropathy.

Key words: type 2 diabetes mellitus, arterial hypertension, anti-collagen type IV IgM antibodies, microvascular complications, diabetic nephropathy

Въведение

Едновременно наличие на артериална хипертония (АХ) и захарен диабет тип 2 (ЗДТ2) повишава общия сърдечно-съдов риск. При диабетичите морбидитетът е главно свързан с наличието на късните усложнения. При пациентите със ЗДТ2 и АХ промените в екстрацелуларния матрикс (ЕЦМ), които предпоставят към фиброза, имат важно значение за структурните съдови нарушения, причиняващи и нарушена съдова функция. При тези пациенти серумните нива на еластиновите и колагеновите антитела корелират с наличието на микроваскуларни компликации. Тези данни предполагат, че мониторирането на плазмените маркери на търновъра на съдовите протеини еластин и колаген тип IV (КIV) може да предостави важна прогностична информация по отношение на процеса на съдовото ремоделиране, развитие и прогресия на съдовите увреждания.

През последните две години активно се изследват циркулиращи биомаркери на колагеновия мета-

болитъм при пациенти с артериална хипертония: с насоченост към увреждания на таргетните органи. Увеличават се експерименталните данни, че уврежданията в ЕЦМ са свързани с хипертонията и с нейните усложнения¹. През 2013 г. активно са изследвани маркерите на ЕЦМ метаболизма като потенциални биомаркери за хипертензивно ремоделиране и свързани с тежестта и обхвата на таргетните органи увреждания при пациенти с есенциална хипертония. Изследвани са 159 пациенти, третирани за есенциална хипертония. Осъществена е изчерпателна оценка на сърдечната, бъбречната и съдовата функция и плазмените нива на плазмен проколаген тип I (PICP), матриксна металопротеаза-1 (MMP-1) и нейният инхибитор (тъканен инхибитор на матриксна металопротеаза-1, TIMP-1) са изследвани. Пациентите са разделени на четири групи: без таргетни органи увреждания (33 пациенти), степен 1 таргетни органи увреждания (52 пациенти), степен 2 таргетни органи увреждания (44 пациенти) и степен 3 таргетни органи увреждания (30 пациенти). Серумните нива

на MMP-1 и TIMP-1 са значимо по-високи при пациентите с таргетни органни увреждания, отколкото при хипертониците без таргетни органни увреждания. Повишените нива на тези молекули са прогресивно свързани с повишението на броя засегнати органи. Не се осъществяват разлики между PCRP нивата между групите. Намерена е корелация между TIMP-1 и всички таргетни органни увреждания при хипертония. Авторите правят заключение, че циркулиращите нива на MMP-1 и TIMP-1 са свързани с разгърнатата хипертонична болест, с повече таргетни органни увреждания. TIMP-1 може да играе роля на ремоделирането при пациентите с АХ.

Диабетната нефропатия е водещата позната причина за последната степен на бъбречната болест (ПСББ) в САЩ. Повечето форми на ПСББ могат да бъдат предотвратени. Диабетната нефропатия засяга 20–30% от болните с тип 2 захарен диабет. Средната 5-годишна очаквана преживяемост за пациенти с ПСББ, свързана с диабета, е по-малко от 20%. Този повишен риск от смъртност може да се дължи на нефропатията, която може да се счита за причина за около 50% от леталните изходи.

Диабетната нефропатия е от най-сериозните компликации на диабета. Тя се дефинира като персистираща албуминурия над 300 mg/24 h или над 200 μ g/ml при намалена гломерулна филтрация и повишено артериално налягане. Наблюдава се обикновено след период от около 10 години от началото на болестта и често се съчетава с диабетна ретинопатия². Етиопатогенетичните механизми, както и на другите форми на диабетна микроангиопатия, остават не напълно изяснени. Първата изява на диабетната нефропатия е микроалбуминурията, която може да прогресира до по-тежка албуминурия (това говори за по-сериозна ренална дисфункция), която може да доведе до бъбречна недостатъчност³⁻⁵.

Известно е, че артериалната хипертония се свързва с намалена, докато захарният диабет – с повишена деградация на съединителнотъканни протеини. В нашето проучване изследвахме пациенти със ЗДТ2 и АХ, които имат съдови увреждания и пациенти със ЗДТ2 и АХ, които нямат такива, за да можем да открием характеристиките на патологично активирания имунен отговор към обмяната на KIV.

В резултат на този усилен колагенов turnover, колагенови тип IV (KIV) фрагменти са освобождавани в кръвообращението, което е патологичен стимул за повишена продукция на автоантитела

срещу епитопите на KIV. Колаген тип IV е широко представен в базалните мембрани и е техен основен структурен елемент^{6,7}. Метаболитната промяна на KIV резултира в микро- и макроваскуларните усложнения на диабетно болните.

Еластинът и колагенът са основните протеини на съдовата стена. Важен фактор за възникването на промени в последната е деградацията на главния екстрацелуларен матриксен протеин-колаген тип IV⁸. Базалната мембрана регулира функциите на много клетки и медуира взаимодействията между различните тъкани. Колаген тип IV е главният компонент на базалните мембрани⁹. Измерването на серумните антитела към фрагменти от KIV сега е възможно и позволява промените да бъдат установени^{10,11}.

Базирайки се на широкото представителство на колагена в базалните мембрани^{6,8}, са разработени няколко имунологични метода за детекция на циркулиращи фрагменти от KIV¹². Регистрирането на циркулиращи KIV-молекули и фрагменти в серума на диабетици^{13,14,15} показва, че KIV-макромолекулите не са напълно разградени от колагеназиите *in vivo*. Тези KIV биха могли да се превърнат в стимул за имунокомпетентните клетки, което би рефлектирало върху продукцията на анти-KIV антитела. Има данни за регистриране на серумни KIV-фрагменти при животни и хора с артериална хипертония^{16,17}.

Тези фрагменти е възможно да се превърнат в силен стимул за имунокомпетентните клетки, водещ до патологична продукция на анти-KIV антитела. Изследователите Susami et al. (2003)¹⁸ измерили серумните анти-KIV IgG при диабетно болни и установили, че тези нива са значимо повече при диабетици, отколкото при здрави контроли. Въпреки това, не е установена връзка между степента на албуминурията и серумните нива на анти-KIV IgG. В наше предишно проучване изследвахме анти-KIV антителата при деца с есенциална хипертония. Пациентите показаха значимо по-високи нива на анти-KIV IgM, докато нивата на анти-KIV IgG бяха по-ниски от тези на контролите⁹.

Материал и методи

Пациенти

Експерименталната група се състои от 93-ма пациента (37 мъже, 56 жени) със ЗД тип 2 и артериална хипертония (средна възраст 61.4±11.3 години; с продължителност на диабета 9.88±3.12 години; продължителност на хипертензията

9.28±4.98). За контроли са изпозвани 42-ма субекти, съвпадащи по пол и възраст с изследваната група, без анамнеза за диабет, атеросклероза или емфизем. Диабетиците са разделени на две групи според наличието (група 1, n=67) или отсъствието (група 2, n=26) на микроваскуларни усложнения (табл. 1). Група 1 се състои от 39% мъже и 61% жени. 55% са пушачи и 45% непушачи. Група 2 се състои от 42% мъже и 58% жени. 58% са пушачи и 42% са непушачи. Контролите се състоят от 45% мъже и 55% жени. 27% са пушачи и 73% са непушачи. Микроалбуминурията е формулирана като персистираща уринарна албуминова екскреция за минута в рамките от 20 до 200 µg/min в стерилна урина. Никои от пациентите нямаше диагноза за бъбречно заболяване, не свързано с диабета, по време на нашето проучване.

Всички пациенти пребиваваха в района на УМБАЛ „Георги Странски“ – Плевен. Серумите на субек-

тите бяха взети от октомври 2011 до май 2012 г. Етично одобрение беше изискано от местната етична комисия и всички пациенти дадоха информирано писмено съгласие преди извършването на нашето проучване.

ELISA

Серумните антители (IgG, IgM и IgA) към KIV бяха определени по ELISA метода. Накратко, всяка сонда от микротитър чинията беше сензитирана със 100 микролитра от 10 µg/ml от човешки KIV (SIGMA, USA) на стайна температура за 3 часа, последвано от инкубация през нощта на 4°C. Плаката беше измита с фосфатно буфериран физиологичен разтвор (ФБФР), съдържащ 0.05% Tween 20 и 1% говежди серумен албумин (GSA, SIGMA, USA). След това 100 µL серумна проба (разредена 1:10) беше поставена във всяка сонда от микротитърната чиния и инкубирахме за 1 час на 37°C. След

Клинични данни			
	Група 1	Група 2	Контроли
Възраст	62.5±12.58	60.4±8.4	58.9±7.56
Пол (М/Ж)	26/41	11/15	20/22
Средна продължителност на диабет	9.30±5.36	9.16±7.59	N/A
Средна продължителност на хипертония	9.50±7.63	8.68±7.26	N/A
HbA _{1c}	7.63±2.03	7.27±1.63	N/A
Систолично АН (mmHg)	142.83±18.05	140.58±20.51	114.29±15.74
Диастолично АН (mmHg)	82.23±11.52	81.35±11.96	72.5±10.4
BMI	29.62±4.99	28.42±3.96	22.61±2.27
Общ холестерол (mmol/L)	5.26±1.40	5.18±0.93	3.99±0.65
HDL (mmol/L)	0.88±0.30	0.93±0.30	0.96±0.20
LDL (mmol/L)	3.18±1.19	3.16±1.09	2.43±0.64
Триглицериди (mmol/L)	2.91±1.68	2.53±1.49	1.31±0.61
Инсулинова доза (U/kg/24h)	2.57±0.52	2.03±0.93	N/A
Плазмен креатинин (umol/L)	102.98±27.12	97.33±19.24	
Креатининов Клирънс (Cockcroft and Gault Formula) (mL/min)	66.76±26.42	67.18±21.51	
GFR (mL/min/1.73 m ²)	62.87±19.66	63.42±14.38	
Анти-KIV IgM (ng/mL)	0.180 (0.136÷0.223)	0.176 (0.151÷0.202)	0.142 (0.118÷0.173)
MAU (µg/min)	*78.94±52.87	8.53±4.69	N/A
MAU	(n=43)	–	
Ретинопатия	(n=20)	–	
Невропатия	(n=4)	–	
Пушачи	37/67	15/26	16/42
Процентно съотношение (мъже/жени)	55%/45%	58%/42%	47%/53%
Брой	67	26	42
Процентно съотношение (мъже/жени)	39%/61%	42%/58%	45%/55%

- Група 1 – пациенти със съдови усложнения (n=67)
- Група 2 – пациенти без съдови усложнения (n= 26)
- Контроли (n=42)
- Стойностите са средна ±SD

Табл. 1. Клинични данни на пациентите с диабет и артериална хипертония

измиване три пъти 100 µL от имуноконюгатите (античовешки имуноглобулин пероксидаза конюгати (SIGMA, USA) към тежката верига на IgG, IgM и IgA)) бяха добавени към всяка сонда за 1 час на 37°C. Всички имуноконюгати бяха разреждени 1:10 000 с ФБФР, съдържащ 1% ГСА и 0.05% Tween²⁰. Плаката беше инкубирана за 1 час на 37°C с о-фениленедиамин (0.4 mg/ml) беше добавен към цитратен буфер и 100 mkrI от този разтвор бяха добавени към всяка сонда, след което бяха оставени 30 минути за протичане на реакциите. Реакцията беше спряна чрез прибавяне на 50 mkrI 4 M H₂SO₄ към всяка сонда и оптичната плътност беше оценена с Microelisa Reader 210 (Organon Teknika, Belgium) на дължина на вълната 492 nm. Анти-KIV нива, по-високи от средно ±2SD от здравите контроли, бяха определени като положителни.

Клинични методи

Офталмоскопия при разширени зеници беше проведена при всички пациенти със ЗД, за да бъде оценено наличието или отсъствието на ретинопатия. Всички пациенти бяха изследвани от един и същ офталмолог. Хемоглобин А1с беше установен чрез течна хроматография под високо налягане (нормален обем 4–6%). Тоталният серумен холестерол и триглицеридните концентрации бяха установени с ензимен анализ (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany). Артериалното налягане беше изследвано със стандартен живачен сфингоманометър до най-близките 2 mmHg, на доминантната ръка, след най-малко 10 минути почивка в супинирана позиция. Персистиращата албуминова екскреция беше определена с нефелометрия, изпозвайки кит, съдържащ специфично анти тяло (Behringwerke, Marburg, Germany).

Статистически анализ

Всички стойности са изразени като средно +/- SD. Статистическите анализи бяха направени с програмите EXCEL, STATGRAPHICS plus за WINDOWS. The Student t-test и ANOVA бяха изпозвани, за да оценят разликите между групите. Корелацията и регресивият анализ също бяха изпозвани. Нивото на значимост беше определено като p<0.05.

Резултати

Проведените изследвания показват, че серумните нива на анти-KIV IgM антитела при пациенти със ЗД тип 2 и АХ са по-високи спрямо контролната група, като тези стойности са сигнификантни 0.178 (0.145±0.220) vs. 0.142 (0.118±0.173) (KW=6.31; p=0.01). Група 1 (пациенти с микроваскуларни ус-

ложнения) показва сигнификантно по-високи стойности на анти-KIV IgM в сравнение със здравите контроли 0.180 (0.136±0.223) vs. 0.142 (0.118±0.173) (KW=5.03; P=0.02). Пациентите от група 2 показва значимо завишение на изследвания показател спрямо контролите 0.176 (0.151±0.202) vs. 0.142 (0.118±0.173) (KW=6.15; p=0.01) (табл. 2 и фиг. 1). Най-високи стойности на анти-KIV IgM се установиха при пациентите със съдови поражения (група 1). Серумните анти-KIV IgM корелират с микроалбуминурията (r=0.21); (p=0.04), BMI (r=0.19); (p=0.04), креатининовия клирънс (r=-0.36); (p=0.01) и GFR (r=-0.34); (p=0.02).

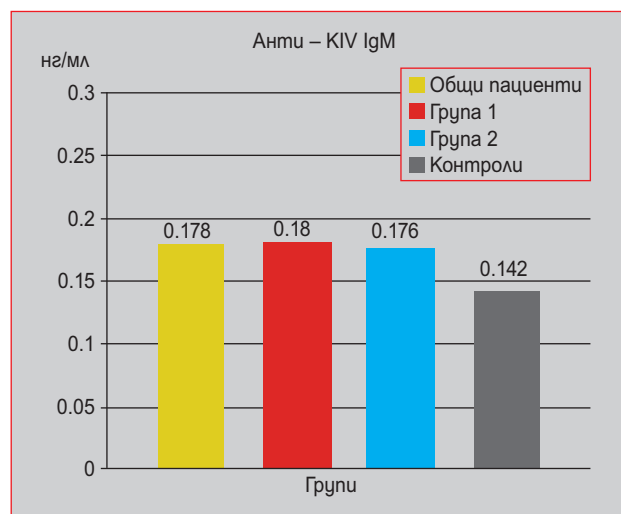
Серумните анти-KIV IgG нива бяха по-високи при пациентите, отколкото при контролите, докато анти-KIV IgA нивата бяха по-високи при контролите, но разликите не са значими.

Дискусия

Появата на МАУ е важен момент от протичането на втори тип диабет. Обикновено се установява, че преди това болните имат повишени

Групи	Анти-KIV IgM (ng/ml)		Сравнение с други групи	
	M±(Q1-Q3)	Група 1	Група 2	Общо пациенти
Общо пациенти	0.178 (0.145±0.220)	NS	NS	-
Група 1	0.180 (0.136±0.223)	-	NS	NS
Група 2	0.176 (0.151±0.202)	NS	-	NS
Контроли	0.142 (0.118±0.173)	P=0.02	P=0.01	P=0.01

Табл. 2. Стойности на серумни анти-KIV IgM при пациенти със ЗД тип 2 и АХ



Фиг. 1. Стойности на серумни анти-KIV IgM при пациенти със ЗД тип 2 и АХ

нива на гликозилиран хемоглобин над 7.5–8% при няколко поредни изследвания²⁰. Гликемичният контрол и стойностите на артериалното налягане – двата основни идентифицирани фактора, отговорни за трансформирането на микроалбуминурията в персистираща протеинурия. Ако средното артериално налягане е по-ниско от 100 mmHg (130/85) и HbA_{1c} се поддържа под 7.5%, състоянието остава непроменено или прогресира много бавно²¹. Средното артериално налягане на диабетици с МАУ е сигнификантно по-високо, но МАУ предшества с 2–3 години покачването на RR, докато ниво на HbA_{1c} над 7.5% предшества с 5 години развитието на МАУ²⁹. Наблюденията показват, че развитието на бъбречни компликации минава през една генетична предиспозиция към хипертензия. Установява се, че диабетици, при които нефропатия се развива в първите 20 години от началото на диабета, по-често имат родители с хипертония. Родителите на протеинурични диабетици имат по-високо средно артериално налягане в сравнение с родителите на непротеинурични пациенти. Лошият гликемичен контрол и предразположението към хипертония действат синергично, като точният механизъм на това взаимодействие остава неясен²².

Имуногенните свойства на колагените са познати при животни. Антитела срещу различни колагенови молекули са представени в човешкия серум при някои заболявания, особено при тези с аутоимунна генеза^{18, 19, 22}. Откриването на фрагменти от KIV в животински и човешки серуми с артериална хипертония^{16, 17} показва, че макромолекулата на KIV не е пълноценно разградена от колагеназите *in vivo*. Тези KIV фрагменти биха могли да представляват повишен потенциален стимул за имунокомпетентните клетки, отключвайки патологична продукция на аутоанти-KIV антитела. Промени на нивата и съотношението на субкласовете KIV-аутоантитела са възможни да бъдат наблюдавани във времето.

Колаген тип IV е от главните компоненти на базалните мембрани и съединителната тъкан. Той е съставен от 7S-участък, включващ четири аминокотерминални полипептидни вериги, свързани помежду си в антипаралелна групировка, и глобуларен карбокситерминален свързващ домейн²³. Колагеновата микрофибрила представлява организация от четири или пет колагенови молекули, разположени по своята дължина и свързани с гликопротеини²⁴. Колагеновият катаболизъм не е така пълно изучен, както колагеновия синтез²⁵. Колагеновият катаболизъм е сложен и многостъпален процес. Той протича не само на интрацелуларно ниво, но и в

екстрацелуларния матрикс. Интрацелуларното разграждане на колагена започва с активацията на високоспецифични колагенази, взаимодействащи с колагеновите молекули^{26, 27}.

С. Тишева показва, че при пациенти с хипертония в сравнение с контроли колагеновите деградационни пептиди са повишени статистически значимо. Това важи и за колагеновите тип IV антитела IgA, колагеновите тип I антитела IgG и колагеновите тип III IgG антитела. Причина за това е нарушеният интегритет на фебрилните структури на съдовата стена²⁸.

Серумният колаген тип IV при пациенти със ЗД с риск за развитие на нефропатия е изследван от Cohen P²⁹. Докато повишената уринарна екскреция на KIV рефлектира на повишената ренална продукция на този протеин на ЕЦМ при ранна диабетна нефропатия, в няколко проучвания е доказано, че изследването на серумната концентрация на KIV също играе важна роля. Авторите измерват серумната KIV-концентрация при 109 пациенти със ЗДТ1 или ЗДТ2 с различни степени на албуминурия (от нормо- до макроалбуминурия) и също така изследват KIV-връзка с албуминова екскреция и серумни нива на креатинин. Серумната KIV-концентрация статистически не се различава при нормоалбуминурия (219±10 ng/mL), микроалбуминурия (209±6 ng/mL) или макроалбуминурия (206±7 ng/mL) при диабетни пациенти или при контролите (206±10 ng/mL). KIV не показва значима корелация (P>0.25) с албуминовата екскреция (r=-0.001), HbA_{1c} (r=0.030) или серумния креатинин (r=-0.161) и не е свързана с уринарна екскреция на KIV.

Тези резултати съвпадат с нашите, защото проведените изследвания показват, че серумните нива на KIV при пациенти със ЗД тип 2 и АХ са по-ниски спрямо контролната група 0.976 (0.596±0.918) vs. 1.109 (0.993±1.258), като тези стойности не са значими (p>0.05). В настоящото проучване открихме значима връзка между серумните нива на анти-KIV IgM и развитието на диабетна нефропатия. Серумните анти-KIV IgM корелират с микроалбуминурията (r=0.21); (p=0.04), BMI (r=0.19); (p=0.04), креатининовия клирънс (r=-0.36); (p=0.01) и GFR (r=-0.34); (p=0.02). Възможно е това да се дължи на последователността в имунния отговор и неговия профил.

Първият имуноглобулин, който се синтезира през ранната фаза на патологично активиран имунен отговор, е IgM. Иmunната система след това превключва на продукция на IgG. Интересно, ние открихме значимо повишение на анти-KIV IgM при вторичния имунен отговор. В случая с болни от ЗДТ2 и АХ не се наблюдава характерната кинетика на IgM

нивата. Повишението на анти-KIV IgM при вторичния имунен отговор може да се дължи на:

■ Забавена KIV-деградация поради наличието на артериална хипертония.

■ Това е свидетелство, че имунната система превключва продукцията от IgM на IgG (съчетанието ЗД и АХ е свързано със значимо по-голям риск за развитие на тъканна дисфункция, съдови усложнения и акцелерация на атеросклерозата).

В настоящото проучване нивата на анти-KIV IgM са статистически значимо по-високи при диабетици с микроалбинурия. Серумните Анти-KIV IgM корелират с микроалбинурията, креатининовия клирънс и GFR. Тези пациенти са развили диабетна нефропатия преди нашите измервания, но субектите от група 2 (без съдови усложнения) вероятно са в ранния стадий от развитието на микроваскуларното заболяване. Покачването на серумните нива на анти-KIV IgM могат да бъдат индикатор за патологичната промяна на колагена, защото:

■ Серумните стойности на анти-KIV IgM са статистически значимо по-високи при пациентите с микроангиопатия, отколкото тези при контролите. Това показва, че ЕЦМ обмяната е патологично усилена, като това води до васкуларна увреда.

■ Показана е корелация между анти-KIV IgM и микроалбинурията, креатининовия клирънс и GFR. Тя показва, че повишението на анти-KIV IgM води до увеличение на МАУ и понижение на креатининовия клирънс и GFR.

Доказано е, че протеини, включително имуноглобулини, акумулират в междуклетъчния матрикс, задебелявайки стените на малките съдове на кръвообращението при диабетни пациенти³⁰. IgM свързва преференциално базалните мембрани, съдържащи гликирани крайни продукти³¹. Продължителната хипергликемия рефлектира върху образуването на гликирани колагенови молекули – част от т.нар. късни продукти на неензимното гликиране – AGEs³². Имуноглобулините свързват така модифицирания колаген. По този начин те увеличават местата за свързване на други молекули към комплекса и разши-

ряват матрикса, натрупвайки се в него. Макрофагите реагират с новите епитопи по повърхността на KIV-молекулите (KIV с AGEs) и освобождават монокини, тумор-некротизиращ фактор и интерлевкин-1. Последният неспецифично стимулира патологичната продукция на нови количества анти-KIV IgM, които ще реагират с нови епитопи или вероятно ще реагират кръстосано с 'нормални' епитопи от молекулата на KIV. Обобщено, гликирането на KIV в базалните мембрани е основният процес, довеждащ до диабетни микроваскуларни усложнения. Повишеният синтез и/или повишеното разграждане на KIV биха предизвикали покачването се серумни нива на KIV-фрагменти, които са силен патологичен стимул за продукцията на специфичните антитела, открити в нашето проучване, главно при пациенти с диабетна нефропатия.

Смятаме, че в нашето проучване беше възможно да наблюдаваме 'активната' фаза на съдовите усложнения, защото нивата на анти-KIV IgM са завишени, докато през хроничния период нивата на последния са ниски и единствено тези на анти-KIV IgG са завишени. Нашето проучване показва връзка между серумните нива на анти-KIV IgM и развитието на диабетна нефропатия. Наличието на горните антитела би довело до разнообразни патологични процеси, включително образуване на имунни комплекси, активиране на комплемента и активация на К-клетъчно-медицирана-антитяло-зависимата клетъчна цитотоксичност³³. Всички тези процеси могат да допринесат за колагеновата деструкция в артериалната стена. Още повече, че колагеновите антигени, презентирани на увредените места от съдовата стена, са открита мишена за специфични Т- и В-лимфоцити, които биха могли да усилят имунния отговор^{34, 35}.

В заключение, нашите резултати показват връзка между повишените серумни нива на анти-KIV IgM и развитието на диабетна нефропатия. Предполагаме, че определянето на серумните анти-KIV IgM антитела може да бъде полезен маркер за идентифициране на болни със ЗДТ2 и АХ, които са с висок риск за развитие на съдови увреждания.

Книгопис

1. *J Hypertens*. 2013 Aug;31(8):1611-7. doi:10.1097/HJH.0b013e3283614c1c.
2. Marre M, Kunrigger H, Altman J-J. Diabetic nephropathy and hypertension in the diabetic. In: Turner R (ed) *Vascular Complications of Diabetes*. 1 Editions pradel. Paris, 1994:103-25.
3. Drummond K, Mauer M. The early natural history of nephropathy in type 1 diabetes, II: early renal structural changes in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2002;51:1580-1587.
4. Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D, et al. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med*. 2001;345:861-869.

Пълната библиографска справка е на разположение в издателството и може да бъде представена при поискване.