

Angela Ciuntu
**SUPPORTUL FACTORULUI DE CREȘTERE DERIVAT DIN TROMBOCITE
ÎN PATOGENIA GLOMERULONEFRITEI LA COPII**

IMSP Institutul Mamei și Copilului
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu"

SUMMARY

**SUPPORT OF THE PLATELET-DERIVED GROWTH FACTOR
IN THE PATHOGENESIS OF GLOMERULONEPHRITIS IN CHILDREN**

Keywords: platelet-derived growth factor (PDGF), glomerulonephritis, biomarkers, children.

In the research 60 children with primary glomerulonephritis in different clinical-evolutionary stages were examined for the platelet-derived growth factor (PDGF-BB) concentration.

The PDGF-BB level in the urine increased in 3.5-3.7 times in the steroid-sensitive nephrotic syndrome (SSNS) and steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS) onset time in opposition to the control group. During the remission period, PDGF-BB levels in the urine reached the control level in acute glomerulonephritis nephritic syndrome and remained elevated in SSNS and SRNS, although they were decreased relative to the values of the acute period. The evaluation of urinary PDGF-BB concentration in children with glomerulonephritis is a biochemical marker suitable for the severity determination of the pathological process, the estimation of sclerotic changes in the kidneys, the differentiation of SSNS and SRNS and the estimation of the effectiveness of the implemented treatment.

РЕЗЮМЕ

ОЦЕНКА ФАКТОРА РОСТА, ПОЛУЧЕННОГО ИЗ ТРОМБОЦИТА В ПАТОГЕНЕЗЕ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА У ДЕТЕЙ

Ключевые слова: фактор роста, полученный из тромбоцитов (PDGF), гломерулонефрит, биомаркеры, дети.

В данной работе была исследована концентрация полученных из тромбоцитов факторов роста (PDGF-BB) в моче у 60 детей с первичным гломерулонефритом в различные клинические стадии развития заболевания.

В острой фазе клинических проявлений у больных с стероид-чувствительным нефротическим синдромом (СЧНС) и стероид-резистентном нефротическим синдромом (СРНС) уровень PDGF-BB в моче увеличивался в 3.5-3.7 раза по сравнению с контрольной группой. В период ремиссии уровни PDGF в моче достигали контрольного уровня при нефритическом синдроме острого гломерулонефрита (ОГН) и оставались повышенными при СЧНС и СРНС, по сравнению с острой фазой заболевания. Оценка концентрации PDGF-BB в моче у детей с гломерулонефритом является биохимическим маркером для определения тяжести патологического процесса, оценки склеротических изменений в почках, дифференциации СЧНФ и СРНФ, оценки эффективности проведенного лечения.

Introducere. Factorul de creștere derivat din trombocite (PDGF) este unul dintre numeroșii factori sau proteine care reglează creșterea, diviziunea celulară avînd un rol important în angiogeneză. Prin recrutarea de celule mezenchimale în glomeruli și interstițiul renal, PDGF participă la dezvoltarea normală a rinichilor. Proliferarea, migrația și activarea celulelor mezenchimale sunt principalele efecte mediate de PDGF[2].

Funcția principală și cea mai bine studiată a PDGF, și în special a PDGFR-β/PDGF-BB și DD, este acțiunea lui mitogenică asupra celulelor mezangiale. Un alt rol major al PDGF este și acțiunea profibrotică. Ambii receptori PDGF-α și β, sunt implicați în proliferarea și activarea fibroblastelor interstițiale. Totodată, acest fenomen este insuficient cercetat, în comparație cu rolul PDGF în proliferarea mezangială [2].

Este demonstrat că PDGF-B este un mediator profibrotic puternic al fibrozei renale și un mediator proangiogenic în glomeruli. În studii recente a fost raportat rolul central și selectiv al formei dimerice PDGF-BB în activarea mezangiului prin proliferarea celulelor mezangiale și acumularea matricei glomerulare [4].

Aceste acțiuni predefinesc rolul major al PDGF în patologia renală, în special, în glomerulonefrita mezangioproliferativă și fibroza interstițială. O implicare a PDGF în alte maladii renale, ca leziunea renală

acută, cea vasculară, hipertensiunea arterială, nefropatia diabetică, sunt insuficient studiate [2].

Lipsește studiul complex cu referire la modificările PDGF în diferite variante clinic-evolutive ale glomerulonefritei la copii.

Obiectivele investigației: Evaluarea concentrației PDGF în urină la etapele clinico-evolutive ale glomerulonefritei la copii.

Material și metode de investigație. Lucrarea de față își propune să prezinte rolul markerilor biochimici în patogenia glomerulonefritei. Experiența pe care o analizăm include 60 copii bolnavi cu glomerulonefrită primară, inclusiv 25 pacienți cu glomerulonefrită acută (GNA) sindromul nefritic, 20 cu sindrom nefrotic steroid-sensibil (SNSS) și 15 cu sindrom nefrotic steroid-rezistent (SNSR). Grupul de control l-au constituit 20 copii practic sănătoși.

Criteriile de includere în studiu au fost: copii cu vârsta cuprinsă între 2-17 ani, cu GNA sindrom nefritic, sindrom nefrotic (SN) primar, clearance-ul creatininei endogene >60 ml/min/1,73m², iar criteriile de excludere au constituit pacienții cu SN congenital, SN secundar asociat cu sindroame genetice, aberații cromozomiale, maladii ale țesutului conjunctiv, vasculite, clearance-ul creatininei endogene <60 ml/min/1,73m², comorbidități cardiovasculare, hepatice, metabolice, boli acute ale organelor interne la momentul începerii studiului.

Cercetările le-am efectuat în IP IMSP Institutul Mamei și Copilului (IM și C) și în Laboratorul Biochimie al IP USMF „Nicolae Testemițanu” pe baza probelor biologice colectate conform principiilor contemporane de cercetare, aprobate de Comitetul de Etică a Cercetării al IP USMF „Nicolae Testemițanu” (aviz favorabil din 13.05.2015, proces verbal nr.55). Vârsta medie a pacienților cu glomerulonefrită (GN) a constituit $8,0 \pm 0,28$ ani.

SN a fost diagnosticat în prezența edemelor, proteinuriei masive (>40 mg/m²/h sau raportului proteină/creatinină urinară $> 2,0$ mg/mg) și hipoalbuminiei ($<2,5$ g/dl) [7]. Sindromul nefrotic steroid-sensibil (SNSS) l-am determinat o dată cu normalizarea analizei de urină în decursul a 4 săptămâni, mai rar 8 săptămâni, după administrarea glucocorticoizilor și instalarea remisiunii complete [7]. Sindromul nefrotic steroid-rezistent (SNSR) l-am considerat dominant în cazul menținerii proteinuriei până la un nivel < 3 g/dl pe parcursul a 6-8 săptămâni de tratament cu prednisolon în doză de 2 mg/kg/24 h și efectuarea ulterioară a pulsterapie cu prednisolon în doză 20-30 mg/kg/24 h N 3 (dar nu mai mult de 1 g pe parcursul unei cure) [7].

Metoda de cuantificare a concentrației PDGF în urină s-a realizat prin procedeul ELISA-sandwich. Pentru aprecierea diferenței semnificative dintre indicii studiați ai loturilor comparate am utilizat metode statistice cu aprecierea mărimii aritmetice medii [X], devierii medii pătrate, erorii medii a mărimii aritmet-

ice medii $[\pm m]$. De asemenea, am utilizat testul statistic nonparametric „U Mann-Whitney” și pragul de semnificație $p < 0,05$ (StatsDirect statistical software, version 1.9.5, 2001).

Rezultatele investigațiilor. Evaluarea clinică a pacienților cu GNA sindrom nefritic în perioada manifestărilor clinice a semnalat prezența edemelor de diferit grad localizate: pe față, abdomen, gambe, a hipertensiunii arteriale, urinei de culoarea „spălăturii de carne”, oligoanuriei. Deci, manifestările clinice atestate în perioada debutului maladiei la pacienții cu SN au fost determinate de edeme generalizate, până la anasarcă, oligoanurie, sindrom algic abdominal și dureri în regiunea lombară. Estimarea markerilor biochimici ai sângelui a evidențiat hipoproteinemie în toate subloturile cu SN. Astfel, în SNSS hipoproteinemie a constituit cca $53,3 \pm 1,27$ g/l, totodată s-au atestat corelații indirecte între nivelul proteinei totale și fibrinogen ($r_{xy} = -0,551$, $p < 0,01$); între nivelul proteinei totale și β -lipoproteide ($r_{xy} = -0,339$, $p < 0,05$); între nivelul proteinei totale și al proteinei în urină timp de 24 h ($r_{xy} = -0,373$, $p < 0,05$). Analiza biochimică a sângelui a demonstrat prezența hipoproteinemiei de cca $51,13 \pm 1,49$ g/l în SNSR, totodată, atestându-se corelații indirecte între nivelul proteinei totale și colesterol ($r_{xy} = -0,550$, $p < 0,001$); între nivelul proteinei totale și trigliceride ($r_{xy} = -0,635$, $p < 0,001$).

Rezultatele studiului nostru au demonstrat modificări majore ale indicilor metabolismului lipidic în toate subgrupurile de pacienți. Astfel, lipidele totale în SNSS au crescut, constituind cca $9,20 \pm 1,13$ g/l, și cca $12,56 \pm 1,49$ g/l în SNSR. Referitor la colesterolul total, am constatat o creștere de cca $7,43 \pm 0,34$ mmol/l în SNSS, fiind prezente corelații directe între nivelul colesterolului total și β -lipoproteide ($r_{xy} = 0,518$, $p < 0,01$) și o creștere de până la $10,05 \pm 0,95$ mmol/l în SNSR, notându-se corelații puternice directe între nivelul colesterolului total și trigliceride ($r_{xy} = 0,764$, $p < 0,001$). Astfel în prezentul studiu s-a stabilit creșterea semnificativă a colesterolului total, lipidelor totale, în comparație cu valorile normale, ceea ce este în concordanță cu rezultatele altor studii [8,10]. Analiza sumarului urinei a evidențiat proteinurie de cca $4,65 \pm 0,6$ g/l în SNSS, și $7,15 \pm 0,09$ g/l în SNSR.

În studiul de față a fost evaluată dinamica nivelului PDGF în urină la copiii cu GN. Rezultatele prezentate în tabelul 1 relevă că nivelul PDGF în urină suferă modificări diferite în raport cu variantele clinice ale GN. Astfel, conform datelor expuse în tabel, nivelul PDGF în urină practic nu s-a modificat în GNA sindrom nefritic perioada manifestărilor clinice. Indicii respectivi au crescut de 3,5-3,7 ori în SNSS și SNSR perioada de debut, față de grupul de control. În perioada remisiunii, nivelele PDGF în urină au atins nivelul de control în GNA sindromul nefritic și au rămas crescute în SNSS și SNSR, deși s-au diminuat în raport cu valorile înregistrate în acutizare.

Tabelul 1.

Nivelul PDGF-BB în urină la copiii cu glomerulonefrită

Grupuri de studiu	PDGF-BB (ng/mM creatinină)	
	acutizare	remisiune
GNA sindrom nefritic	21,4±4,67 123%	17,6±1,32 101,1%, p ₁ >0,05
SNSS	60,6±18,75** 348,3%	25,1±2,20* 144,3%, p ₁ <0,01
SNSR	64,8±11,65** 372,4%, p ₂ >0,05	40,2±5,12** 231,03%, p ₁ >0,05
Control	17,4±2,98	

Notă: diferență statistic semnificativă în raport cu valorile grupului de control: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001. p₁–autenticitatea indicilor în comparație cu indicele respectiv înregistrat la etapa de acutizare; p₂–autenticitatea indicilor la compararea SNSS cu SNSR.

Discuții. O serie de studii au analizat rolul inhibiției PDGF în modelele de GN mezangioproliferativă și crescentică sau alte boli glomerulare. Unele studii au inițiat tratamentul cu întârziere după inducerea bolii, adică la un moment în care boala glomerulară a progresat la un prejudiciu tubulointerstițial. Cu toate acestea, nici unul dintre aceste studii nu ar putea distinge în mod clar efectele inhibării PDGF în glomeruli, în raport de tubulointerstițiu. Câteva studii experimentale au abordat rolul PDGF în modele de fibroză tubulointerstițială [3,6].

Expresia crescută a receptorului PDGFR-β și formei dimerice PDGF-BB în semilunile glomerulare a fost demonstrată anterior în biopsiile renale umane. La animale cu anti-GBM nefrită, ambele forme ale PDGFR-β și PDGF-BB au fost supraexprimate în semilune [5]. Ambii receptori PDGF și toți liganzii prezintă o reglementare înaltă în fibroza renală [3].

Studii recente au demonstrat implicarea semnificativă a receptorului PDGF-β (PDGFR-β) în maladiile glomerulare, în special în patogenia nefropatiei IgA. Astfel vizarea semnificativă a PDGFR-p reprezintă o strategie terapeutică viabilă pentru bolile glomerulare [9].

Rezultatele studiului efectuat de Bessa S.S. au evidențiat semnificația clinică a nivelului PDGF-BB la pacienții cu diabet zaharat de tip 2 cu sau fără nefropatie: valorile urinare ale PDGF-BB erau crescute semnificativ la pacienții diabetici, comparativ cu valorile matorului, dar fără diferență semnificativă [1]. Aceste rezultate sunt în concordanță cu rezultatele obținute de Wang Q. care au relevat că nivelurile PDGF-BB

urinare în grupul cu macroalbuminurie au fost mai înalte comparativ cu cele din grupul cu microalbuminurie, fără diferențe semnificative [11].

Concluzii. Evaluarea concentrației PDGF-BB urinare la copiii cu glomerulonefrită reprezintă un marker biochimic relevant pentru determinarea severității procesului patologic, estimarea modificărilor sclerotice în rinichi, diferențierea sindromului nefrotic steroid-sensibil de sindromul nefrotic steroid-rezistent, precum și pentru aprecierea eficacității tratamentului aplicat.

Bibliografie:

1. Bessa S.S, Hussein T.A., Morad M.A. Urinary Platelet-Derived Growth Factor-BB as an Early Marker of Nephropathy in Patients with Type 2 Diabetes: An Egyptian Study Renal Failure, 2012, 34(6), pp. 670-5.
2. Boor P., Ostendorf T., Floege J. PDGF and the progression of renal disease. Nephrol Dial Transplant., 2013, vol. 29, issue suppl 1, pp. i45-i54.
3. Boor P., Konieczny A., Villa L., et al. PDGF-D inhibition by CR002 ameliorates tubulointerstitial fibrosis following experimental glomerulonephritis. Nephrol Dial Transplant., 2007, vol. 22, pp. 1323-31.
4. Chen Y.T., et al. Platelet-derived growth factor receptor signaling activates pericyte-myofibroblast transition in obstructive and post-ischemic kidney fibrosis. Kidney Int., 2011, 80(11), pp. 1170-81.
5. Fujigaki Y., Sun DF., Fujimoto T., et al. Cytokines and cell cycle regulation in the fibrous progression of crescent formation in antiglomerular basement membrane nephritis of WKY rats. Virchows Arch., 2001, vol. 439, pp. 35-45.
6. Jürgen F., Eitner F., Alpers E. C. A New Look at Platelet-Derived Growth Factor in Renal Disease. J Am Soc nephrol., 2008, vol. 19, pp. 12-23.
7. KDIGO clinical practice guideline for Glomerulonephritis. Kidney, 2012, Int.Suppl 2, pp.139-274.
8. Krishnaswamy D., Indumati V., Sathishkumar D., et al. Serum proteins, initial and follow up lipid profile in children with nephritic syndrome. J Applied Bio Pharma Tech., 2011, vol. 2, pp. 59-64.
9. Nakagawa T., Inoue H., Sasahara M. Platelet-derived growth factor and renal disease. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2012, 21(1), pp.80-5.
10. Sreenivasa B., Manjunatha B., Nivil Joseph. Comparative study of lipid profile abnormalities in first episode and relapse cases of childhood nephrotic syndrome. J Contemp Pediatr., 2016, 3 (4), pp. 1297-1300.
11. Wang Q., Guan Q., Chen F. The changes of platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB) in T2DM and its clinical significance for early diagnosis of diabetic nephropathy. Diabetes Res Clin Pract., 2009; 85, pp. 166-70.