

УДК: 616.72-002-021.3:616.61-003.9]-053.2-036.3:616.63-07  
DOI: 10.24061/2413-4260. XIV.1.51.2024.8

**Т. Борисова<sup>1</sup>, С. Самсоненко<sup>2</sup>, Л. Вакуленко<sup>2</sup>**

Черкаська медична академія<sup>1</sup> (м. Черкаси, Україна),  
Дніпровський державний медичний університет<sup>2</sup>  
(м. Дніпро, Україна)

ФАКТОРИ РИЗИКУ ТА КЛІНІЧНІ  
КОРЕЛЯЦІЇ TGF- $\beta$ 1 В СЕЧІ У ДІТЕЙ  
З ЮВЕНІЛЬНИМ ІДІОПАТИЧНИМ  
АРТРИТОМ ТА РАННІМ ФІБРОЗОМ  
НИРОК

### Резюме

Перебіг ювенільного ідіопатичного артриту (ЮІА) пов'язаний із тривалим запальним процесом та застосуванням нестероїдних протизапальних засобів, які потенційно можуть спричинити нефротоксичний ефект із фібротичним ураженням нирок у хворих на ЮІА. Незалежно від етіології суглобового ушкодження тривале запалення сприяє прогресуванню фіброзу, а фіброз нирок є кінцевою загальною стадією хронічної хвороби нирок (ХХН). Біопсія нирки, яка є інвазивним і ризикованим методом і не використовується регулярно, вважається єдиним клінічним інструментом для виявлення фіброзу. Разом з тим, за останнє десятиліття було досягнуто певного прогресу в пошуку мінімально інвазивних біомаркерів раннього фіброзу нирок, причому ключова роль у прогресуванні фіброзу нирок відводиться трансформуючому фактору росту- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), однак не відоме значення TGF- $\beta$ 1 у дітей, хворих на ЮІА.

**Мета дослідження** – визначити взаємозв'язок рівня TGF- $\beta$ 1 у сечі, як маркеру раннього фіброзу нирок у дітей, хворих на ЮІА, залежно від клінічного перебігу захворювання, особливостей коморбідних факторів та схеми лікування.

**Матеріал і методи дослідження.** Обстежено 80 дітей з ЮІА. Рівень TGF- $\beta$ 1 у сечі визначали за допомогою набору TGF- $\beta$ 1 ELISA (DRG International, Inc., Німеччина, EIA-1864) відповідно до інструкції виробника.

Для всіх пацієнтів отримано інформовану згоду. Дослідження має позитивний висновок комісії з питань біомедичної етики Дніпровського державного медичного університету (протокол засідання комісії № 12 від 19.12.2023 року), яка постановила, що наукове дослідження вважати таким, що відповідає загальноприйнятим нормам моралі, вимогам дотримання прав, інтересів та особистої достоїнності учасників дослідження, біоетичним нормам роботи з хворими дитячого віку. Ризик для суб'єктів дослідження під час виконання роботи відсутній. Законних представників дітей, яких залучено до дослідження, інформують про всі аспекти, пов'язані з метою, задачами, методиками та очікуваною користю дослідження.

Лабораторні та інструментальні методи дослідження є загальноприйнятими, препарати, що будуть використані, дозволені до застосування. Експерименти на людині не проводилися.

Використовувалися методи варіаційної статистики. Статистичний аналіз виконували за допомогою програмного пакету STATISTICA 6.1® (StatSoftInc., серійний № AGAR909E415822FA).

Робота виконана в рамках науково-дослідницької роботи кафедри пропедевтики дитячих хвороб та педіатрії 2 Дніпровського державного медичного університету «Розробка критеріїв ранньої діагностики та прогнозування коморбідного ураження нирок у дітей з соматичними та інфекційними захворюваннями» (державний реєстраційний № 0119U100836, термін виконання 01.2019-12.2023 рік).

**Результати дослідження.** Середній вміст TGF- $\beta$ 1 у нашому дослідженні становив  $20,26 \pm 16,34$  (14,02; 12,5-17,98) нг/мл. Поліартрит майже в чотири рази збільшив шанси підвищення рівня TGF- $\beta$ 1. Стандартизованих нормативних даних щодо рівня TGF- $\beta$ 1 у сечі у дітей на даний момент відсутні, ми сформували вибірку пацієнтів, які мали рівень TGF- $\beta$ 1 не нижче верхнього квартиля досліджуваного нами варіаційного ряду (17,98 нг/мл) і провели порівняльний аналіз із вибіркою пацієнтів із рівнем TGF- $\beta$ 1 < 17,98 нг/мл. Переважна більшість дітей із підвищення TGF- $\beta$ 1 хворіли на поліартрит (80,0 %) – у півтора рази частіше, ніж із відносно нормальною концентрацією TGF- $\beta$ 1,  $p < 0,04$ .

Якщо активна стадія захворювання тривала щонайменше 4 роки, шанси на підвищення TGF- $\beta$ 1 зростали більш ніж у шість разів. Тенденцію значного нефротоксичного ефекту тривалого активного ЮІА підтверджено результатами кореляційного аналізу, згідно з якими, в цілому, тривалість активного ЮІА безпосередньо пов'язана зі збільшенням TGF- $\beta$ 1 ( $\rho = 0,38$ ,  $p < 0,001$ ), а тривалість ремісії та загальна тривалість ЮІА достовірно не корелювали з нею (відповідно  $\rho = -0,19$  та  $\rho = 0,18$ ,  $p > 0,05$ ).

Встановлено пряму залежність підвищення рівня TGF- $\beta$ 1 у сечі від клінічних проявів поліартриту та тривалості активної стадії ЮІА. Ці клінічні ознаки у дітей з ЮІА можна розглядати як фактори ризику розвитку раннього фіброзу нирок. На тлі підвищення TGF- $\beta$ 1 у 95 % випадків виявлено знижену розрахункову швидкість клубочкової фільтрації (рШКФ) за формулою Ноєк ( $< 90$  мл/хв./1,73 м<sup>2</sup>), тобто оцінки функціонального стану нирок, отримані за двома різними методами були цілком однозначними. У вибірці з TGF- $\beta$ 1 < 17,98 нг/мл – 22,76 % дітей отримували імунобіологічну терапію, тоді як у вибірці з підвищення TGF- $\beta$ 1 – лише 14,76 %. Імунобіологічна терапія знизила ризик підвищення цього сечового маркера в 5,5 разів.

**Висновки.** Підвищений рівень біомаркеру TGF- $\beta$ 1 виявлено у 25 % дітей з ЮІА. Встановлена асоціація раннього фіброзу нирок з тривалістю активної стадії ЮІА  $\geq 4$  років, підвищенням ШОЕ, поліартритом, артеріальною гіпертензією, карієсом зубів. Чоловіча стать значуще знижує ризик раннього фіброзу нирок – практично в такому жє ступені, як цей ризик підвищують АГ і тривала активна стадія ЮІА. Підвищений рівень TGF- $\beta$ 1 в сечі асоціюється зі зниженою рШКФ та відмічається практично у всіх дітей із рШКФ < 90 мл/хв./1,73 м<sup>2</sup>, що підтверджує значення раннього фіброзу нирок в розвитку ниркової дисфункції.

**Ключові слова:** ювенільний ідіопатичний артрит; нирки; діти; маркер фіброзу; TGF- $\beta$ ; імунобіологічна терапія; ураження нирок.

## Вступ

Ювенільний ідіопатичний артрит (ЮІА) – гетерогенна група, що об'єднує різні захворювання з проявами артриту одного і більше суглобів тривалістю понад 6 тиж у дітей до 16 років нез'ясованої етіології. ЮІА – це діагноз виключення, він об'єднує всі форми дитячого хронічного артриту невідомої причини. Відомо, що ювенільний ідіопатичний артрит (ЮІА) розвивається внаслідок комбінування генетичної предрозпорядженості та факторів зовнішнього середовища (імовірно інфекції). Перебіг ювенільного ідіопатичного артриту (ЮІА) пов'язаний із тривалим запальним процесом та тривалим симптоматичним застосуванням НПЗС, що не тільки допомагають контролювати запальні симптоми ЮІА, але й викликати нефротоксичні ефекти, які потенційно можуть спричинити фібротичні ураження нирок у хворих на ЮІА [1,2,3].

Механізм, що лежить в основі прогресуючого ниркового фіброзу, до кінця не вивчений, але загальнови́знано, що запалення є ключовим фактором у його розвитку, індукованим як захисна реакція на пошкодження в спробі усунути причину та сприяти відновленню органу. Доведено, що тривале запалення, незалежно від етіології ушкодження, сприяє прогресуванню фіброзу [4, 5], а фіброз нирок є кінцевою загальною стадією хронічної хвороби нирок (ХХН) [6, 7]. Згідно з дослідженнями [8], тривале запалення у дорослих пацієнтів з ревматоїдним артритом відіграє важливу роль у розвитку ХХН. Водночас опубліковано лише одне дослідження поширеності ХХН у дітей з ЮІА, згідно з яким через 65 місяців від початку захворювання у 8 % з них була артеріальна гіпертензія (АГ) або протеїнурія [9].

Незалежно від основного захворювання та наявності провокуючих факторів, тубулоінтерстиціальний фіброз є ознакою прогресуючої ХХН [10], тому його своєчасне виявлення та прогноз є надзвичайно важливими. В даний час єдиним клінічним інструментом для виявлення фіброзу є біопсія нирки, яка є інвазивним і ризикованим методом і не використовується регулярно. Проте за останнє десятиліття було досягнуто певного прогресу в пошуку мінімально інвазивних біомаркерів раннього фіброзу нирок [11], причому ключова роль у прогресуванні фіброзу нирок відводиться трансформуючому фактору росту- $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) [6].

Трансформуючий фактор росту бета (англ. Transforming growth factor beta, TGF-beta) – білок (представник цитокінів), що контролює проліферацію, клітинне диференціювання та інші функції в більшості клітин. TGF-beta – це білок, що виділяється клітиною в позаклітинне середовище. Існує принаймні в трьох ізоформах: TGF-beta1, TGF-beta2 і TGF-beta3. TGF-beta виділяють багато типів клітин, включно з макрофагами, у неактивній (латентній) формі, в якій він з'єднаний із двома іншими поліпептидами, латентним TGF-beta-зв'язувальним білком (LTBP) і LAP. Сироваткові протеїнази, такі як плазмін, каталізують вивільнення активного TGF-beta з комплексу. Це часто відбувається на поверхні макрофага, де латентний комплекс TGF-beta пов'язаний із рецептором CD36 через його ліганд, тромбоспондин-1 (TSP-1). Запальні

стимули, які активують макрофаги, підвищують вивільнення активного TGF-beta, викликаючи активацію плазміну. Макрофаги можуть також поглинати за допомогою ендоцитозу пов'язані з IgG латентні комплекси TGF-beta, що секретуються плазмоцитами, і потім виділяють активний TGF-beta міжклітинну рідину [5,6,11,12,13]. Маркер TGF- $\beta 1$  проявляє свою профібротичну активність шляхом стимуляції проліферації фібробластів і синтезу позаклітинного матриксу – колагену I, III і IV типів, протеогліканів, ламініну та фібронектину [13].

В доступній літературі ми не знайшли досліджень TGF- $\beta 1$  при ЮІА, але є публікації про дослідження цього маркера у дітей із різними захворюваннями нирок. На сьогоднішній день дослідники описують маркер TGF- $\beta 1$  як індикатор прогресування ХХН [12], маркер фіброзу [11], а також як протизапальний маркер при бактеріальних інфекціях нирок [14]. Вивчається також поліморфізм гена TGF- $\beta 1$  при різних захворюваннях. Так, у дорослих хворих на ревматоїдний артрит виявлено кореляцію між поліморфізмом гена +869T/C у TGF- $\beta 1$  [15]. Активну увагу приділяють рівню сироваткового TGF- $\beta 1$  як маркеру синовіальної проліферації та прогресування ревматоїдного артриту [16].

Виходячи з вищевикладеного, гіпотеза про ризик раннього розвитку фіброзу нирок у дітей з ЮІА виглядає цілком логічною, а необхідність своєчасної корекції ХХН актуалізує питання неінвазивної діагностики ХХН за допомогою ниркових біомаркерів.

**Мета дослідження** – визначити зв'язок між рівнем TGF- $\beta 1$  у сечі як маркера раннього фіброзу нирок у дітей з ЮІА залежно від клінічного перебігу захворювання, особливостей факторів коморбідності та схеми лікування.

## Матеріал та методи дослідження

Дослідження проводилось у 2019-2020 роках на базі кардіоревматологічного відділення Дніпровської обласної дитячої клінічної лікарні. Для всіх пацієнтів отримано інформовану згоду. Дослідження проводилося відповідно до принципів Гельсінської декларації. Протокол дослідження був затверджений місцевим комітетом з етики.

Критерії включення: діти з діагнозом ЮІА за критеріями EULAR [2], інформована згода батьків на участь у дослідженні. Критерії виключення: вроджені вади розвитку сечовидільної системи, наявність в анамнезі або на момент обстеження набутих захворювань сечовидільної системи.

Проаналізовано медичну документацію для оцінки віку дитини на момент початку захворювання, тривалості перебігу та клінічних особливостей ЮІА, а також схеми лікування. Активність захворювання визначали за шкалою активності ювенільного артриту (JADAS-27) [2]. Клінічне обстеження на момент дослідження включало оцінку стану здоров'я дітей за даними The Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ) [17], загальноклінічні (дослідження крові та сечі), біохімічні (креатинін сироватки крові та рШКФ

за формулою Шварца), сечовина крові, С-реактивний білок), імуноферментні (антинуклеарні антитіла, антиген HLA B27) та імунологічні (ревматоїдний фактор). Також було проведено ультразвукове дослідження суглобів та нирок. Рівень креатиніну в сироватці крові визначали двічі (перший та третій місяці дослідження)

калориметричним кінетичним методом Яффе, концентрацію цистатину С у сироватці крові – один раз на третій місяць дослідження твердофазним методом за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу («Цистатин С-ІФА-БЕСТ»). Повний опис дослідження представлено на блок-схемі 1.



**Рис. 1. Блок-схема – дизайн дослідження**

Для визначення рШКФ за рівнем цистатину С у сироватці крові використовували формулу Ноєк [18]:

$$\text{рШКФ (мл/хв/1,73 м}^2\text{)} = 80,35/\text{цистатин С (мг/л)} - 4,32$$

Рівень TGF-β1 у сечі визначали один раз у перший місяць дослідження. Для вимірювання маркера TGF-β1 використовували набір TGF-β1 ELISA (DRG International, Inc., США). Набір DRG TGF-β1 ELISA – це твердофазний імуноферментний аналіз (ELISA), заснований на принципі сендвіча. Зразки сечі для визначення TGF-β1 збирали одноразово (ранкова сеча). До аналізу сечу зберігали при – 80 °С. Перед проведенням імуноферментного аналізу зразки розморожували.

У якості статистичних методів дослідження таблиць сполученості показника TGF-β1 застосовували χ<sup>2</sup>-критерій та точний критерій Фішера. Усі отримані

$$\text{Співвідношення шансів} = (\text{шанси події в групі, що піддається впливу}) / (\text{шанси події в групі, що не піддається впливу})$$

Дескриптивну статистику інтервальних змінних описували як середнє значення, середньоквадратичне відхилення, медіана, верхній та нижній квантилі. З метою визначення міри зв'язку між концентрацією TGF-β1 та іншими інтервальними даними застосовували рангову кореляцію Спірмена. Статистичний аналіз виконували за допомогою програмного пакету STATISTICA 6.1® (StatSoft Inc., серійний № AGAR909E415822FA).

Робота виконана в рамках науково-дослідницької роботи кафедри пропедевтики дитячих хвороб та пе-

Критерієм зниження рШКФ вважалося значення нижче 90 мл/хв/1,73 м<sup>2</sup> [19].

результати прийнято статистично вірогідними за симптоматичної значущості, меншої за 0,05 (p<0,05). Для кількісної оцінки значущого зв'язку між TGF-β1 та результативними ознаками клінічного перебігу ЮІА, особливостей факторів коморбідності та схеми лікування розраховували відношення шансів (OR) з довірчими інтервалами 95 % діапазону (CI). Співвідношення шансів допомагає визначити, наскільки ймовірно вплив призведе до певної події [3]. Діагностичне визначення співвідношення шансів дозволяє об'єктивно оцінити продуктивність проведеного діагностичного визначення для захворювання, що вивчається.

діатрії 2 Дніпровського державного медичного університету «Розробка критеріїв ранньої діагностики та прогнозування коморбідного ураження нирок у дітей з соматичними та інфекційними захворюваннями» (державний реєстраційний № 0119U100836, термін виконання 01.2019-12.2023 рік).

#### **Результати дослідження та їх обговорення**

Обстежено 80 дітей з ЮІА, з них 46 (57,5 %) дівчаток і 34 (42,5 %) хлопчиків. Вік обстежених 10,4±4,41



(10,6-15,0) року. Дебют ЮІА спостерігався у віці  $5,8 \pm 4,14$  (4,9; 2,9) року. Відзначено такі варіанти клінічного перебігу ЮІА: системний артрит – 9 (11,3 %), поліартрит – 47 (58,8 %), олігоартрит – 24 (30,0 %) випадки. Ремісія ЮІА діагностована у 60 (75,0 %) дітей, низька активність ЮІА – у 14 (17,5 %), висока активність ЮІА – у 6 (7,5 %).

При обстеженні хворих на ураження нирок за стандартними методами патологічних змін у загальному аналізі сечі, креатиніну та сечовини, рШКФ за формулою Шварца, УЗД нирок не виявлено.

Середній рівень TGF- $\beta$ 1 у сечі становив  $20,26 \pm 16,34$  (14,02; 12,5-17,98) пг/мл. Виходячи з того, що стан-

дартизованих нормативних даних щодо рівня TGF- $\beta$ 1 у сечі у дітей на даний момент відсутні, ми сформували вибірку пацієнтів, які мали рівень TGF- $\beta$ 1 не нижче верхнього квартиля досліджуваного нами варіаційного ряду (17,98 пг/мл) і провели порівняльний аналіз із вибіркою пацієнтів із рівнем TGF- $\beta$ 1 < 17,98 пг/мл. Досліджено факторні таблиці розподілу частоти показників клінічного перебігу, коморбідних станів та терапевтичних схем ЮІА залежно від вмісту TGF- $\beta$ 1 в сечі. На основі результатів цього аналізу було виявлено фактори, значною мірою пов'язані з підвищенням рівня TGF- $\beta$ 1, які наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Взаємозв'язок показників перебігу та лікування ЮІА від рівня TGF- $\beta$ 1 в сечі

Фактор	Підвищений TGF- $\beta$ 1		OR (CI)
	ні, n=60	так, n=20	
Позитивно пов'язані з високим рівнем TGF- $\beta$ 1			
Поліартрит	31 (51,7 %)	16 (80,0 %) *	3,74 (1,12-12,51)
Тривалість ЮІА $\geq$ 6 років	13 (21,7 %)	9 (45,0 %) *	2,96 (1,01-8,66)
Активна стадія $\geq$ 4 років	10 (16,7 %)	11 (55,0 %) **	6,11 (2,01-18,58)
Карієс	19 (31,7 %)	12 (60,0 %) *	3,24 (1,14-9,22)
Артеріальна гіпертензія (АГ)	3 (5,0 %)	5 (25,0 %) *	6,33 (1,36-29,55)
Швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) вище норми	8 (13,3 %)	8 (40,0 %) *	4,33 (1,35-13,88)
рШКФ за формулою Ноєк нижче норми	14 (23,3 %)	19 (95,0 %) ***	62,43 (7,66-508,8)
Використання нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП)	12 (20,0 %)	10 (50,0 %) *	4,00 (1,36-11,79)
Негативно пов'язані з високим рівнем TGF- $\beta$ 1			
Чоловіча стать	31 (51,7 %)	3 (15,0 %) **	0,17 (0,04-0,62)
Використання імунобіологічної терапії	23 (38,3 %)	2 (10,0 %) *	0,18 (0,04-0,84)

Примітка. \*, \*\*, \*\*\* – значуща відмінність від референтних рівнів відповідно  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  і  $p < 0,001$  (використовували  $\chi^2$ -критерій та точний критерій Фішера)

Згідно отриманим даним, чоловіча стать вшестеро знижувала ризики підвищення TGF- $\beta$ 1 (табл. 1). Серед дітей з підвищеним рівнем TGF- $\beta$ 1 у хлопчиків зустрічалося у 3,4 рази рідше, ніж у вибірці з TGF- $\beta$ 1 нижче 17,98 пг/мл,  $p < 0,005$ .

Поліартрит майже вчетверо збільшував шанси патологічних змін TGF- $\beta$ 1. Переважна більшість дітей з підвищеним рівнем TGF- $\beta$ 1 страждала на поліартрит (80,0 %) – у півтора рази частіше, ніж ті, в кого спостерігалась відносна нормальна концентрація TGF- $\beta$ 1,  $p < 0,04$ .

Тривалість ЮІА становила в середньому  $4,6 \pm 3,03$  (4; 2,58-6) року, у 22 (27,5 %) випадках – не менше 6 років, вдвічі частіше на фоні підвищення TGF- $\beta$ 1,  $p < 0,05$ . При такій тривалості ЮІА ризик гіперпродукції TGF- $\beta$ 1 зростав майже втричі. Тривалість активної стадії ЮІА становила  $3,0 \pm 2,28$  (2,3; 1,5-4) року, у 21 (26,3 %) випадку – 4 і більше років. Такі пацієнти у вибірці з підвищеним TGF- $\beta$ 1 виявлялися частіше у 3,3 рази,  $p < 0,002$ . Якщо активна стадія захворювання тривала щонайменше 4 роки, шанси на підвищення TGF- $\beta$ 1 збільшувалися більш ніж у шість разів. Тенденцію істотного нефротоксичного ефекту довготривалої активності ЮІА підтверджено і результатами кореляційного аналізу, згідно з яким в цілому тривалість активної ЮІА безпосередньо була пов'язана з підвищенням TGF- $\beta$ 1 ( $\rho = 0,38$ ,  $p < 0,001$ ), а тривалість ремісії та загальна тривалість ЮІА не мали з ним значущої кореляції (відповідно,  $\rho = -0,19$  і  $\rho = 0,18$ ,  $p > 0,05$ ). Вихо-

дячи з викладеного, значущість залежності TGF- $\beta$ 1 від загального терміну захворювання пояснюється лише тривалістю активного ЮІА, тим паче, що вона вдвічі перевищувала таку в ремісії, де вона склала  $1,6 \pm 1,40$  (1; 0,43-2,8) року.

Таким чином, встановлено прямий зв'язок між підвищенням рівня TGF- $\beta$ 1 у сечі та такими клінічними проявами, як поліартрит і тривалість активної стадії ЮІА. Ці клінічні ознаки у дітей з ЮІА можна розглядати як фактори ризику розвитку раннього фіброзу нирок.

Подальше дослідження стосувалося вогнищ хронічної інфекції. Їх діагностовано у 65 (81,3 %) випадках: карієс у 31 (38,8 %), аденоїдит у 10 (12,5 %), рекурентний тонзиліт у 26 (32,5 %). Значний зв'язок із TGF- $\beta$ 1 був виявлений лише щодо карієсу, який майже вдвічі частіше зустрічався у дітей з підвищенням TGF- $\beta$ 1,  $p < 0,04$ . Наявність карієсу підвищувала ймовірність підвищення рівня маркера TGF- $\beta$ 1 у сечі майже так само, як і поліартрит (табл. 1).

У 8 (10,0 %) наших хворих діагностовано артеріальну гіпертензію. Ця патологія є як причиною, так і наслідком ХХН [20], впр'ятеро частіше асоціювалася з високим рівнем TGF- $\beta$ 1 і більш ніж вшестеро підвищувала шанси підвищеного TGF- $\beta$ 1.

Одним із маркерів активності ЮІА є ШОЕ. Серед пацієнтів із підвищенням TGF- $\beta$ 1 ШОЕ вище норми відзначали втричі частіше, ніж у дітей з TGF- $\beta$ 1 < 17,98 пг/мл,  $p < 0,02$ . Наявність високого рівня ШОЕ збільшує

ризиків підвищення рівня TGF- $\beta$ 1 більш ніж учетверо. Крім того, TGF- $\beta$ 1 мав позитивну кореляцію не лише з ШОЕ ( $\rho=0,35$ ,  $p<0,002$ ), а й з кількістю нейтрофілів ( $\rho=0,38$ ,  $p<0,001$ ) і рН сечі ( $\rho=0,23$ ,  $p<0,05$ ). З рівнем лімфоцитів він корелював зворотнім чином ( $\rho=-0,40$ ,  $p<0,001$ ).

У нашому дослідженні не виявлено змін рівня TGF- $\beta$ 1 залежно від показників креатиніну та рШКФ, обчисленої за формулою Schwartz, тому ми провели більш детальний аналіз функціонального стану нирок, включаючи показники цистатину С і рШКФ, розрахованої на основі цистатину С за формулою Hoek, та дослідили їх взаємозв'язок з концентрацією TGF- $\beta$ 1. Згідно рШКФ за Hoek, ниркову дисфункцію мали 33 (41,3 %) пацієнтів з ЮІА. На фоні підвищення TGF- $\beta$ 1 знижена рШКФ за формулою Hoek ( $<90$  мл/хв./1,73 м<sup>2</sup>) зустрічалася в 95 % випадків, тобто оцінки функціонального стану нирок, отримані за двома різними методиками, співпадали. На користь валідності цих методик свідчило також і надзвичайно високе значення OR при спряженості TGF- $\beta$ 1 з рШКФ (табл. 1), і їх тісна зворотна кореляція ( $\rho=-0,88$ ,  $p<0,001$ ).

З отриманих результатів проведеного аналізу, впливає, що при обстеженні пацієнтів з ЮІА вищу діагностичну цінність має розрахункове значення клубочкової фільтрації, виміряне за цистатином С, а не за креатиніном, співпадає з аналогічним у дослідженні [21].

Центральне місце в проблемі ЮІА посідають питання терапії. Лікування має бути випередженим, агресивним і максимально ефективним. Для зменшення проявів суглобового синдрому першою терапевтичною лінією є застосування НПЗП. Препарати призначаються індивідуально та на різний проміжок часу – до отримання клінічного ефекту. На момент нашого дослідження НПЗП приймали 22 (27,5 %) дітей. Середня тривалість їх прийому за весь період ЮІА сягала 4,6 $\pm$ 4,91 (3; 2-6) року. Всі наші пацієнти також отримували метотрексат. Застосування НПЗП у 2,5 рази частіше асоціювалося з підвищенням TGF- $\beta$ 1 ( $p<0,02$ ) і в чотири рази збільшувало шанси на його підвищення. Наші дані узгоджуються з результатами дослідження Gicchino MF та співавторів [9], згідно з якими основним фактором ризику ХХН у дітей з ЮІА є тривалий прийом НПЗП та метотрексату при активних формах захворювання.

### Література:

1. Макеєва НІ, Морозова ОО. Рівень біологічних маркерів фіброгенезу й ангиогенезу в сечі дітей з везикоуретральним рефлексом. Здоров'я дитини. 2018; 13 (5):462-466. Доступно: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zd\\_2018\\_13\\_5\\_9](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zd_2018_13_5_9)
2. Chevalier RL. The proximal tubule is the primary target of injury and progression of kidney disease: role of the glomerulotubular junction. Am J Physiol Renal Physiol. 2016;311(1):145-161. doi: 10.1152/ajprenal.00164.2016
3. Chiu HY, Huang HL, Li CH, et al. Increased Risk of Chronic Kidney Disease in Rheumatoid Arthritis Associated with Cardiovascular Complications – A National Population-Based Cohort Study. PLoS One. 2015;10(9): e0136508. doi: 10.1371/journal.pone.0136508
4. Gicchino MF, Di Sessa A, Guarino S, Miraglia Del Giudice E, Olivieri AN, Marzuillo P. Prevalence of and factors associated to chronic kidney disease and hypertension in a cohort of children with juvenile idiopathic arthritis. Eur J Pediatr. 2021;180(2):655-661. doi: 10.1007/s00431-020-03792-4
5. Hoek FJ, Kemperman FA, Krediet RT. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. Nephrol Dial Transplant. 2003;18(10):2024-2031. doi: 10.1093/ndt/fgf349
6. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. Kidney International Supplements. 2013;3(1):1-50. Доступно: [https://kdigo.org/wp-content/uploads/2017/02/KDIGO\\_2012\\_CKD\\_GL.pdf](https://kdigo.org/wp-content/uploads/2017/02/KDIGO_2012_CKD_GL.pdf).

Імунобіологічну терапію у нашому дослідженні застосовували в 25 (31,3 %) випадках, в середньому протягом 3,0 $\pm$ 2,23 (2,3; 1,4-4,3) року. У вибірці з TGF- $\beta$ 1 $<$ 17,98 пг/мл її отримувала кожна третя-четверта дитина, у вибірці з підвищеним TGF- $\beta$ 1 – лише кожна десята. Імунобіологічна терапія в 5,5 разів знижувала ризиків підвищення цього маркера в сечі.

В узагальненому вигляді вищевикладені результати узгоджуються з висновком Tang P. C. et al. стосовно того, що короточасна активація TGF- $\beta$ 1 сприяє процесу відновлення нирок, а тривала активація цього фактору росту спричиняє фіброз та прогресування ХХН [22]. Не слід недооцінювати роль TGF- $\beta$ 1 у патогенезі ниркового нефросклерозу, що загрожує розвитком та прогресуванням ХХН[23].

### Висновки

1. Підвищений рівень біомаркера TGF- $\beta$ 1 виявлено у 25 % дітей з ЮІА.
2. Встановлена асоціація раннього фіброзу нирок з тривалістю активної стадії ЮІА  $\geq$  4 років (OR=6,11; 95 % CI: 2,01-18,58;  $p<0,01$ ), підвищенням ШОЕ (OR=4,33; 95 % CI: 1,35-13,88;  $p<0,05$ ), поліартритом (OR=3,74; 95 % CI: 1,12-12,51;  $p<0,05$ ), артеріальною гіпертензією (OR=6,33; 95 % CI: 1,36-29,55;  $p<0,05$ ), карієсом зубів (OR=3,24; 95 % CI: 1,14-9,22;  $p<0,05$ ).
3. Чоловіча стать значуще знижує ризик раннього фіброзу нирок – практично в такому ж ступені, як цей ризик підвищують АГ і тривала активна стадія ЮІА. З чим це пов'язано!
4. Підвищений рівень TGF- $\beta$ 1 в сечі асоціюється зі зниженою рШКФ (OR=15,58; 95 % CI: 4,02-60,36;  $p<0,001$ ) та відмічається практично у всіх дітей із рШКФ $<$ 90 мл/хв./1,73 м<sup>2</sup>, що підтверджує значення раннього фіброзу нирок в розвитку ниркової дисфункції.

**Перспективи подальших досліджень.** Побудувати багатофакторну регресивну модель прогнозування коморбідного ураження нирок у дітей з ЮІА.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Джерела фінансування.** Робота виконана власним коштом.

7. Kochi M, Kohagura K, Shiohira Y, Iseki K, Ohya Y. Inflammation as a Risk of Developing Chronic Kidney Disease in Rheumatoid Arthritis. *PLoS One*. 2016 Aug 18;11(8): e0160225. doi: 10.1371/journal.pone.0160225
8. Krzemień G, Szmigielska A, Turczyn A, Pańczyk-Tomaszewska M. Urine interleukin-6, interleukin-8 and transforming growth factor  $\beta$ 1 in infants with urinary tract infection and asymptomatic bacteriuria. *Cent Eur J Immunol*. 2016;41(3):260-267. doi: 10.5114/ceji.2016.63125
9. Loboda A, Sobczak M, Jozkowicz A, Dulak J. TGF- $\beta$ 1/Smads and miR-21 in Kidney Fibrosis and Inflammation. *Mediators Inflamm*. 2016;2016:8319283. doi: 10.1155/2016/8319283
10. Makieieva NI, Morozova OO, Iarova KK, Pryima YS, Golovachova VO, Vygivska LA. Urinary excretion of TGF-  $\beta$ 1 and VEGF in children with vesicoureteral reflux. *Wiadomości Lekarskie Medical Advances*. 2020;73(11): 12-17. doi: 10.36740/wlek202011114
11. Mansour SG, Puthumana J, Coca SG, Gentry M, Parikh CR. Biomarkers for the detection of kidney fibrosis and prediction of kidney outcomes: a systematic review. *BMC Nephrol*. 2017;18(1):72. doi: 10.1186/s12882-017-0490-0
12. Martini A, Lovell DJ, Albani S, Brunner HI, Hyrich KL, et al. Juvenile idiopathic arthritis. *Nat Rev Dis Primers*. 2022 Jan 27;8(1):5. doi: 10.1038/s41572-021-00332-8
13. Meng XM, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. Inflammatory processes in kidney fibrosis. *Nat Rev Nephrol*. 2014;10(9):493-503. doi: 10.1038/nrneph.2014.114
14. Miyamae T, Tani Y, Kishi T, Yamanaka H, Singh G. Updated version of Japanese Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ). *Mod Rheumatol*. 2020 Sep;30(5):905-909. doi: 10.1080/14397595.2019.1660027
15. Nakashima A, Horita S, Matsunaga T, Inoue R, Zoshima T, Mizushima I, et al. Factors contributing to discrepant estimated glomerular filtration values measured by creatinine and cystatin C in patients with rheumatoid arthritis. *Sci Rep*. 2021;11(1):9884. doi: 10.1038/s41598-021-89303-3
16. Nordal EB, Zak M, Berntson L, Aalto K, Lahdenne P, Peltoniemi S, et al. Juvenile Arthritis Disease Activity Score (JADAS) based on CRP; validity and predictive ability in a Nordic population-based setting. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2011;9(1):155. doi: 10.1186/1546-0096-9-S1-P155
17. Pugh D, Gallacher PJ, Dhaun N. Management of Hypertension in Chronic Kidney Disease. *Drugs*. 2019;79(4):365-379. doi: 10.1007/s40265-019-1064-1
18. Sun W, Yi M, Bai Y, Wu L, Chen J, Ren Y, et al. Correlations between the polymorphism of +869T/C in TGF- $\beta$ 1 and rheumatoid arthritis. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2019;19(1):127-132. Доступно: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6454251/>
19. Tang PC, Chan AS, Zhang CB, García Córdoba CA, Zhang YY, To KF, et al. TGF- $\beta$ 1 Signaling: Immune Dynamics of Chronic Kidney Diseases. *Front Med (Lausanne)*. 2021;8:628519. doi: 10.3389/fmed.2021.628519
20. Thatayatikom A, Modica R, De Leucio A. Juvenile Idiopathic Arthritis. [Updated 2023 Jan 16]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2023 Jan. Доступно: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554605/>
21. Tokoroyama T, Ando M, Setoguchi K, Tsuchiya K, Nitta K. Prevalence, incidence and prognosis of chronic kidney disease classified according to current guidelines: a large retrospective cohort study of rheumatoid arthritis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2017 Dec 1;32(12):2035-2042. doi: 10.1093/ndt/gfw315
22. Wang S, Wang S, Li H, Zhu L, Wang Y. Inhibition of the TGF- $\beta$ /Smads signaling pathway attenuates pulmonary fibrosis and induces anti-proliferative effect on synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis. *Int J Clin Exp Pathol*. 2019;12(5):1835-1845. Доступно: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6947118/>
23. Wei X, Xia Y, Li F, Tang Y, Nie J, Liu Y, et al. Kindlin-2 mediates activation of TGF- $\beta$ /Smad signaling and kidney fibrosis. *J Am Soc Nephrol*. 2013;24(9):1387-98. doi: 10.1681/ASN.2012101041

## RISK FACTORS AND CLINICAL CORRELATIONS OF URINARY TGF-B1 IN CHILDREN WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS AND EARLY KIDNEY FIBROSIS

*T. Borysova<sup>1</sup>, S. Samsonenko<sup>2</sup>, L. Vakulenko<sup>2</sup>*

**Cherkasy Medical Academy<sup>1</sup> (Cherkasy, Ukraine),  
Dnipro State Medical University<sup>2</sup> (Dnipro, Ukraine)**

### Summary.

The course of juvenile idiopathic arthritis (JIA) is associated with a long-term inflammatory process and the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), which can cause nephrotoxicity with fibrotic kidney damage in patients with JIA. Regardless of the etiology of joint damage, prolonged inflammation promotes the progression of fibrosis, and renal fibrosis is the final common stage of chronic kidney disease (CKD). Kidney biopsy, which is invasive, risky and underutilized, is generally considered the only clinical method to detect fibrosis. Over the past decade, some progress has been made in the search for minimally invasive biomarkers of early kidney fibrosis, with transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) playing a key role in the progression of kidney fibrosis, but the significance of TGF- $\beta$ 1 in children with JIA is unknown.

**Material and Methods.** 80 children with JIA were examined. Urinary TGF- $\beta$ 1 levels were determined using a TGF- $\beta$ 1 ELISA kit (DRG International, Inc., Germany, EIA-1864) according to the manufacturer's instructions. Methods of variation statistics were used.

Informed consent was obtained from all patients. The study has a positive conclusion of the Commission on Biomedical Ethics of Dnipro State Medical University (Minutes of the meeting of the Commission No. 12 dated December 19, 2002), which decided that the scientific research can be considered in accordance with generally accepted moral standards, the requirements of respecting the rights, interests and personal dignity of study participants, bioethical standards for work with pediatric patients. There is no risk to the research subjects in the performance of the work. The legal representatives of the children involved in the research are informed about all aspects related to the purpose, objectives, methods and expected benefits of the research.

Laboratory and instrumental research methods are generally accepted; the drugs to be used are approved for use. No human experiments were performed.

Methods of variation statistics were used. Statistical analysis was performed using the STATISTICA 6.1 software package (StatSoft Inc., serial no. AGAR909E415822FA).

The work was carried out as part of the research work of the Department of Propaedeutic of Childhood Diseases and Pediatrics 2 of the Dnipro State Medical University «Development of criteria for early diagnosis and prediction of comorbid kidney damage in children with somatic and infectious diseases» (state registration No. 0119U100932, implementation period 01.2019-12.2023).

**Results.** The mean TGF- $\beta$ 1 level in our study was  $20.26 \pm 16.34$  (14.02, 12.5-17.98) pg/ml. Polyarthritis almost quadrupled the probability of pathological changes in TGF- $\beta$ 1. The overwhelming majority of children with elevated TGF- $\beta$ 1 suffered from polyarthritis (80.0 %) – one and a half times more often than those with relatively normal TGF- $\beta$ 1 concentration,  $p < 0.04$ .

If the active stage of the disease lasted at least 4 years, the probability of elevated TGF- $\beta$ 1 increased more than sixfold. The tendency of significant nephrotoxic effect of prolonged active JIA was confirmed by the results of correlation analysis, according to which, in general, the duration of active JIA was directly related to the increase of TGF- $\beta$ 1 ( $\rho = 0.38$ ,  $p < 0.001$ ), and the duration of remission and the total duration of JIA had no significant correlation with it ( $\rho = -0.19$  and  $\rho = 0.18$ , respectively,  $p > 0.05$ ).

The direct dependence of elevated urinary TGF- $\beta$ 1 levels on clinical features such as polyarthritis and the duration of the active phase of JIA has been demonstrated. These clinical features in children with JIA can be considered as risk factors for the development of early renal fibrosis. Against the background of elevated TGF- $\beta$ 1, a reduced GFR according to the Hoek formula ( $< 90$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>) was found in 95 % of cases, i.e. the estimates of the functional state of the kidneys obtained by two different methods were quite clearly the same. In the sample with TGF- $\beta$ 1  $< 17.98$  pg/ml, 22.76 % of children received immunobiologic therapy, while in the sample to increase TGF- $\beta$ 1 – only 14.76 %. Immunobiological therapy reduced the risk of increasing this urinary marker by 5.5 times.

**Conclusions.** Elevated levels of the TGF- $\beta$ 1 biomarker were found in 25 % of children with JIA. An association of early renal fibrosis with duration of active phase of JIA  $\geq 4$  years, increased ESR, polyarthritis, arterial hypertension, and dental caries was observed. Elevated urinary TGF- $\beta$ 1 levels are associated with reduced eGFR and are observed in almost all children with eGFR  $< 90$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, confirming the importance of early renal fibrosis in the development of renal dysfunction.

**Key words:** Juvenile Idiopathic Arthritis; Kidneys; Children; Fibrosis Marker; TGF- $\beta$ 1; Immunobiologic Therapy; Kidney Damage.

**Контактна інформація:**

**Борисова Тамара Петрівна** – доктор медичних наук, професор, професор кафедри фахових медичних та фармацевтичних дисциплін Черкаської медичної академії (м. Черкаси, Україна).

**e-mail:** toma.inform@gmail.com

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8347-4348>

**Самсоненко Світлана Володимирівна** – доктор філософії, асистент кафедри пропедевтики дитячих хвороб та педіатрії № 2 Дніпровського державного медичного університету (м. Дніпро, Україна).

**e-mail:** ssindorella2@gmail.com

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-6812-0939>

**Вакуленко Людмила Іванівна** – доктор медичних наук, професор, завідувачка кафедри пропедевтики дитячих хвороб та педіатрії № 2 Дніпровського державного медичного університету (м. Дніпро, Україна).

**e-mail:** vakulenkol@ukr.net

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-3823-6134>

**Contact information:**

**Tamara Borysova** – Doctor of Medical Science, PhD, MD, Full Professor, Professor of the Department of Therapeutic disciplines, Cherkasy Medical Academy (Cherkasy, Ukraine).

**e-mail:** toma.inform@gmail.com

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8347-4348>

**Svitlana Samsonenko** – PhD, MD, Assistant Professor of the Department of Propaedeutics of Children's Diseases and Pediatrics #2, Dnipro State Medical University (Dnipro, Ukraine).

**e-mail:** ssindorella2@gmail.com

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-6812-0939>

**Liudmyla Vakulenko** – Doctor of Medical Science, PhD, MD, Full Professor, Head of the Department of Propaedeutics of Children's Diseases and Pediatrics #2, Dnipro State Medical University (Dnipro, Ukraine).

**e-mail:** vakulenkol@ukr.net

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-3823-6134>

Надійшло до редакції 23.12.2023 р.

Підписано до друку 10.02.2024 р.

