

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ ПРИ ГЛОМЕРУЛОПАТИЯХ У ДЕТЕЙ

© *Жизневская И.И., Хмелевская И.Г.*

Кафедра педиатрии Курского государственного медицинского университета, Курск

E-mail: irbryanceva@yandex.ru

В данной статье представлены результаты исследования содержания цитокинов про- и противовоспалительного действия в сыворотке крови 139 детей, больных гломерулопатиями. Прослежена динамика данных показателей, установлены различия в уровне исследованных цитокинов в дебюте и в динамике заболевания. Манифестация гломерулопатий характеризуется выраженной провоспалительной цитокинемией независимо от дальнейшего исхода заболевания. При остром гломерулонефрите к моменту клинического выздоровления отмечается тенденция к нормализации цитокинового баланса. В то же время у детей с хроническим гломерулонефритом установлено дальнейшее повышение концентрации ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-6 и ИЛ-8, а уровень ИЛ-1Ra по-прежнему продолжал снижаться, что, возможно, обуславливает персистенцию иммунного воспаления в почечной ткани и может являться маркером высокого риска хронизации гломерулопатий, а также служить основанием для выявления предикторов неблагоприятного прогноза заболевания.

Ключевые слова: про- и противовоспалительные цитокины, дети, гломерулонефрит.

PECULIARITIES OF THE CYTOKINE PROFILE IN GLOMERULOPATHY IN CHILDREN

Zhiznevskaya I.I., Khmelevskaya I.G.

Pediatrics Department of Kursk State Medical University, Kursk

The article represents the results of assessing the pro- and antiinflammatory cytokine profile in sera of 139 children suffering from glomerulopathy. The dynamics of these measurements has been retraced, as well as the distinctions in the level of the studied cytokines in the manifestation and in the course of the disease have been found. The manifestation of glomerular diseases is characterized by significant proinflammatory cytokinemia. By the moment of clinical improvement in acute glomerulonephritis cytokine balance has demonstrated the tendency to normalization of its initial changes. At the same time in children with chronic glomerulonephritis the IL -1 β , IL-6, FNO- α , IL-8 levels are rising and the level of IL-1RA is lowering that may be regarded as a marker of the high- risk chronic course of glomerulonephritis and may be regarded as a predictor of an unfavorable outcome.

Keywords: pro and anti-inflammatory cytokines, children, glomerulonephritis.

До настоящего времени гломерулопатии, манифестирующие в детском возрасте, остаются важнейшей проблемой в связи с высоким риском развития осложнений в остром периоде, а также возможностью затяжного и рецидивирующего течения. В то же время ряд авторов отмечают, что за последние 10-15 лет увеличилась частота хронических форм гломерулонефрита, протекающих с ранним нарушением почечных функций [8, 9, 10, 11]. По мнению многих исследователей хронический гломерулонефрит (ХГН) является одной из основных причин развития хронической почечной недостаточности и ранней инвалидизации подростков и взрослых [1, 10, 13]. Дифференциальная диагностика гломерулопатий осложняется тем, что в современной клинической практике относительно редко наблюдается яркая манифестация гломерулонефрита (ГН), все чаще встречается малосимптомный, атипичный клинический вариант, который, в основном, представлен изолированным мочевым синдромом [2, 6].

Основа диагностического процесса и его полноценность связаны с целенаправленным и оптимальным использованием современных методов

исследования. До недавнего времени верификация формы гломерулопатий основывалась на клинических, рутинных общелабораторных методах исследования, таких как общий анализ крови, мочи, биохимический анализ крови. Однако с помощью этих методов невозможно определить индивидуальный прогноз заболевания и выявить этиопатогенетические механизмы развития ГН [6, 7, 12].

Экспериментальными и клиническими исследованиями последних лет установлена ведущая роль биологически активных соединений - цитокинов в развитии и прогрессировании гломерулярного воспаления [3, 5, 14, 20]. Цитокины - это белки, вырабатываемые преимущественно активированными клетками иммунной системы, лишенные специфичности в отношении антигенов и являющиеся медиаторами межклеточных коммуникаций при иммунном ответе, гемопоэзе, воспалении, а также межсистемных взаимодействиях [14, 17]. Достижения современной иммунологии позволили установить, что дисрегуляция цитокиновой сети является неотъемлемой частью практически всех изученных аутоиммунных заболева-

ний [4, 15, 17]. В настоящее время установлено, что цитокины являются универсальными регуляторами функциональной активности иммунокомпетентных клеток, вовлекаются в инфекционно-воспалительный процесс и на уровне собственно иммунных механизмов и эффекторного звена, во многом определяя тяжесть и исход патологического процесса [17, 18, 20]. Посредством цитокинов регулируется глубина, характер, продолжительность воспаления и иммунного ответа организма [18, 20]. Однако до настоящего времени недостаточно изучена степень участия этих биологических маркеров в развитии и прогрессировании поражения почек. Несмотря на большое количество экспериментальных работ, в клинических условиях комплексные исследования цитокиновых взаимодействий при гломерулопатиях (особенно у детей) в доступной литературе крайне немногочисленны, а их результаты весьма противоречивы.

С учетом высокой социальной значимости гломерулопатий, а также решающего значения в патогенезе этого заболевания дисбаланса иммунной системы расшифровка клеточно-молекулярных механизмов, в частности, особенностей цитокинового статуса при остром и хроническом воспалении в почке, остается в настоящее время актуальным и перспективным направлением для прогнозирования исхода ГН.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования явилось изучение особенностей цитокинового профиля при различных вариантах гломерулопатий у детей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование были включены 139 детей с впервые выявленными проявлениями гломерулопатий в возрасте 7-16 лет (75 мальчиков и 64 девочки), находившихся на лечении в нефрологическом отделении областной детской клинической больницы г. Курска с 1999 по 2010 гг.

Все дети с гломерулопатиями были госпитализированы в первые $3,0 \pm 0,82$ дня от момента клинической манифестации заболевания. В дальнейшем динамика ГН была прослежена ретроспективно от дебюта заболевания до 5 лет. Пациенты были разделены на две группы. В первую группу вошли 103 (74,1%) ребенка с установленным диагнозом - острый гломерулонефрит (ОГН), разрешившийся выздоровлением, во вторую группу - 36 (25,9%) пациентов, у которых в последующем сформировался ХГН. Контрольную группу составили 40 здоровых детей, сопоставимых по полу и возрасту. При наличии сопутствующих хромосомных аномалий, острых инфекци-

онных процессов, системных заболеваний пациенты исключались из исследования. Здоровыми считали детей без каких-либо признаков патологии внутренних органов, не имеющих хронических очагов инфекции, не болевших вирусными или острыми бактериальными инфекциями в течение последнего месяца, с нормальными анализами крови и мочи. Родители пациентов дали информированное согласие на включение в исследование. Разрешение этического комитета на проведение исследования получено.

Все дети с ГН были госпитализированы в первые 4-10 дней от момента начала заболевания. Средний срок лечения в стационаре составил $45,5 \pm 3,1$ дня. Оценку клинического статуса, лабораторных и иммунологических параметров проводили при включении пациентов в исследование (на момент дебюта заболевания) и через 45 дней от манифестации ГН, т.е. к моменту клинического улучшения.

Пациентам проводилось комплексное обследование, включавшее клинико-anamnestическую оценку, а также общеклинические лабораторные и инструментальные исследования. Для комплексной оценки иммунного статуса наших пациентов мы определяли содержание провоспалительных (ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-6) и противовоспалительных (ИЛ-8, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-1Ra) цитокинов в сыворотке крови методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием унифицированных тест-систем Pro Cop (производство ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирская обл.) [19].

Лечение больных обеих групп в дебюте ГН осуществлялось с учетом существующих рекомендаций и включало базисную терапию (режим, диету, антибиотики), патогенетическую (антикоагулянты, дезагреганты) и симптоматические средства (мочегонные, гипотензивные).

Статистическую обработку результатов исследования проводили путем вычисления средней арифметической (M) и среднего квадратичного отклонения (σ) с помощью программных комплексов «STATISTICA 6.0». Достоверность различий сравниваемых показателей определяли с помощью t критерия Стьюдента [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что тяжесть и выраженность воспалительного процесса определяется балансом цитокинов. В связи с этим для комплексной оценки иммунного статуса наших пациентов мы исследовали содержание цитокинов с про- и противовоспалительной активностью в сыворотке крови больных с гломерулопатиями.

Уровень цитокинов в сыворотке крови в дебюте острого и хронического гломерулонефрита у детей ($M \pm \sigma$)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3
		Здоровые дети	Дети с острым гломерулонефритом	Дети с хроническим гломерулонефритом
ИЛ-1 β	пг/мл	3,24 $\pm$ 0,57	6,68 $\pm$ 0,60 ^{*1}	7,46 $\pm$ 0,67 ^{*1,2}
ФНО α	пг/мл	8,06 $\pm$ 0,57	28,31 $\pm$ 3,11 ^{*1}	36,01 $\pm$ 3,30 ^{*1,2}
ИЛ-6	пг/мл	70,3 $\pm$ 7,01	104,1 $\pm$ 9,37 ^{*1}	92,41 $\pm$ 8,32 ^{*1,2}
ИЛ-8	пг/мл	51,4 $\pm$ 5,21	107,94 $\pm$ 9,71 ^{*1}	72,8 $\pm$ 8,01 ^{*1,2}
ИЛ-4	пг/мл	9,73 $\pm$ 0,48	24,52 $\pm$ 2,70 ^{*1}	13,46 $\pm$ 1,21 ^{*1,2}
ИЛ-10	пг/мл	29,21 $\pm$ 2,47	32,12 $\pm$ 3,53	37,44 $\pm$ 3,36 ^{*1,2}
ИЛ-1Ra	пг/мл	212,41 $\pm$ 0,59	196,09 $\pm$ 17,6	94,42 $\pm$ 8,49 ^{*1,2}

Примечания:

1. «*» обозначает достоверность различий величин по отношению к показателям до лечения ($p < 0,05$).
2. Цифровые индексы обозначают группы, по сравнению с которыми различия достоверны ($p < 0,05$).

Содержание цитокинов в крови обследованных детей на момент включения в исследование в дебюте острого и хронического ГН представлено в табл. 1. В дебюте гломерулопатий отмечалось достоверное увеличение содержания ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-6 у детей обеих групп в сравнении с показателями контрольной группы (табл. 1). Так, у пациентов с ОГН в периоде активных проявлений наблюдалось повышение концентрации ИЛ-1 β в 2,1 раза, ФНО α в 3,5 раза и ИЛ-6 в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) (табл. 1). Наряду с этим у детей с последующей хронизацией ГН отмечалось достоверное увеличение уровня ИЛ-1 β в 2,3 раза, ФНО α – в 4,5 раза и ИЛ-6 – в 1,3 раза по сравнению с контрольными значениями ($p < 0,05$) (табл. 1).

Известно, что провоспалительный цитокин ИЛ-1 β продуцируется клетками воспаления, вызывает высвобождение и экспрессию других воспалительных медиаторов (цитокинов/факторов роста, хемокинов, биоактивных липидов, металлопротеиназ и активных радикалов кислорода, адгезивных рецепторов), пролиферацию резидентных клеток, накопление экстрацеллюлярного матрикса [4, 22, 23].

ФНО α усиливает пролиферацию Т- и В-клеток, цитотоксических лимфоцитов, фагоцитоз, индуцирует синтез ИЛ-1, ИЛ-6, ИФН- γ , ИЛ-2, хемоаттрактантов, адгезивных молекул (ICAM-1, VCAM-1 и др.), острофазных белков, активирует фибробласты, синтез коллагена и коагуляцию [4]. ФНО α стимулирует адгезию моноцитов и лимфоцитов (*in vitro*) к мезангиальным клеткам, индуцируя экспрессию ICAM-1 [4].

Следует отметить, что ИЛ-6 является одним из наиболее активных цитокинов, участвующих в реализации иммунного ответа и воспалительной реакции, повышается при воспалительных процессах. Его определение и мониторинг являются

более чувствительным тестом, особенно на ранних стадиях воспалительного процесса [15]. Повышение уровня ИЛ-6 в крови при ГН у взрослых сочетается с генерализованным повреждением эндотелия, что запускает основные звенья патогенеза этого заболевания: преобладание синтеза эндотелием вазоконстрикторных веществ, увеличение проницаемости сосудистой стенки, активация свертывающей системы крови, повышение вязкости крови, нарушения микроциркуляции [18].

Исследование исходного уровня цитокинов противовоспалительного действия (ИЛ-8, ИЛ-4, ИЛ-10) в сыворотке крови показало достоверное увеличение содержания в сравнении с контрольной группой. В то время как уровень ИЛ-1Ra находился ниже показателей здоровых детей. Так было установлено, что у пациентов с ОГН уровень ИЛ-8 оказался выше в 2,1 раза в сравнении с контролем ($p < 0,05$) (табл. 1). В то же время у детей с последующей хронизацией ГН концентрация ИЛ-8 превышала в 1,4 раза контрольные значения, но оказалась ниже в 1,5 раза уровня пациентов с ОГН ($p < 0,05$) (табл. 1). Известно, что ИЛ-8 является медиатором воспаления из группы хемокинов, обеспечивающих хемотаксис в зону воспаления нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов и Т-клеток. ИЛ-8 может вызывать миграцию клеток и способствовать их адгезии, что определяет его как активного участника острой провоспалительной реакции в местах проникновения патогена. Повышенный уровень ИЛ-8 ассоциируется с острыми и хроническими воспалительными состояниями [5].

У пациентов с ОГН содержание ИЛ-4 превышало в 2,5 раза показатели контрольной группы ($p < 0,05$) (табл. 1). В то время как у детей с ХГН уровень ИЛ-4 оказался в 1,4 раза выше контроля и в 1,8 раза ниже, чем у пациентов с ОГН ($p < 0,05$)

(табл. 1). Считают, что ИЛ-4 ингибирует цитотоксическую активность Т-лимфоцитов, макрофагов. Совместно с другими цитокинами ИЛ-4 способствует пролиферации тучных клеток. ИЛ-4 отвечает за активность гуморального звена. Он участвует не только в развитии провоспалительных реакций, но и играет значительную роль в процессах хронизации [5].

Аналогично изменялась концентрация ИЛ-10 у пациентов с последующим клиническим выздоровлением (табл. 1). У детей с ХГН уровень ИЛ-10 оказался выше контроля в 1,3 раза ($p < 0,05$) (табл. 1). Установлено, что ИЛ-10 снижает продукцию провоспалительных интерлейкинов - ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ингибирует экспрессию рецепторов к ним, уменьшает антигенпредставляющую способность моноцитов и макрофагов [3, 22].

Семейство интерлейкина 1 (ИЛ-1) включает два агониста - ИЛ-1 α и ИЛ-1 β и их специфический антагонист ИЛ-1Ra. Интерес представляло исследование уровня ИЛ-1Ra. У пациентов обеих групп были выявлены низкие значения ИЛ-1Ra. Так у детей с последующей хронизацией ГН отмечалось достоверное снижение в 2,2 раза концентрации ИЛ-1Ra в сравнении с контрольной группой, что оказалось в 2,1 раза ниже, чем у пациентов с ОГН ($p < 0,05$) (табл. 1).

Для оценки динамики сывороточных цитокинов мы проводили исследование пациентов через 45 дней от манифестации заболевания, т.е. к моменту клинического улучшения.

В результате было установлено, что у пациентов с последующим клиническим выздоровлением регистрировалось снижение содержания изученных нами провоспалительных цитокинов (рис. 1).

В то же время у детей с ХГН в динамике выявлено дальнейшее повышение содержания сыво-

роточных цитокинов с провоспалительной активностью (ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-6): в 1,7; 1,4; 1,3 раза по сравнению с периодом манифестации соответственно ($p < 0,05$) (рис. 1).

При динамической оценке уровня противовоспалительных цитокинов у пациентов с ОГН была выявлена нормализация содержания ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-1Ra, а концентрация ИЛ-4 оказалась в 3,7 раза выше показателей контрольной группы и в 1,5 раза выше в сравнении с манифестацией ОГН ($p < 0,05$) (рис. 1).

У пациентов с ХГН регистрировалось дальнейшее повышение содержания ИЛ-8, что в 1,3 раза выше в сравнении с дебютом ХГН ($p < 0,05$) (рис. 1). В то же время концентрации ИЛ-4 и ИЛ-10 снижались, практически достигая контрольных значений ($p < 0,05$) (рис. 1). Также обращало на себя внимание дальнейшее снижение содержания в сыворотке крови ИЛ-1Ra, ($p < 0,05$) (рис. 1).

Таким образом, в нашем исследовании дебют гломерулопатий независимо от дальнейшего их течения характеризовался высоким уровнем провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО α и ИЛ-6), что свидетельствует о выраженности воспалительного иммунопатологического процесса в почках, причем наиболее значимое их повышение отмечалось у больных с последующим клиническим выздоровлением.

С течением заболевания при ОГН выявлялось снижение про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-8, ИЛ-10 и ИЛ-1Ra) и повышение концентрации ИЛ-4, что, вероятно, свидетельствует о регрессе активности воспалительной реакции.

В то же время у пациентов с ХГН регистрировалось дальнейшее повышение концентрации всех провоспалительных цитокинов и противовос-

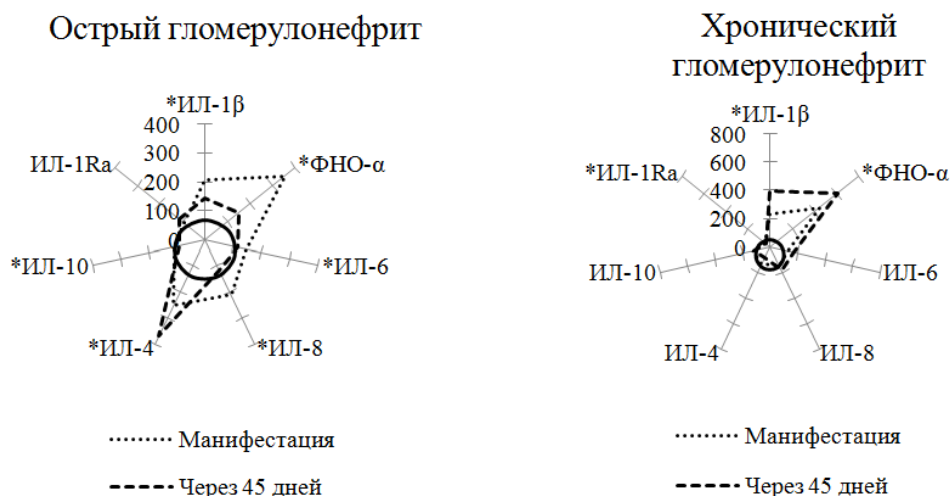


Рис. 1. Динамика содержания цитокинов в периферической крови при гломерулопатиях у детей.

Примечания:

1. Радиус окружности - контрольные значения.

2. «*» обозначает достоверность различий средних величин по сравнению с показателями в дебюте гломерулонефрита ($p < 0,05$).

спалительного цитокина ИЛ-8, а уровень ИЛ-1Ra по-прежнему продолжал снижаться, что, возможно, обуславливает персистенцию иммунного воспаления в почечной ткани и может являться маркером высокого риска хронизации гломерулопатий, а также служить основанием для выявления предикторов неблагоприятного прогноза заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алиев С.И., Алиев Р.А. Первичные заболевания в развитии хронической почечной недостаточности // Нефрология и диализ. – 2005. – Т. 7, № 3. – С. 254-262.
2. Борисова Т.П. Морфологическая характеристика различных форм гломерулонефрита и их клинических проявлений в детском возрасте. // Здоровье ребенка. – 2007. – Т. 1, № 4. – С. 28-35.
3. Ващурина Т. В., Сенцова Т. Б., Сергеева Т. В. Уровни Ил-10, Ил-8 в крови детей с различными вариантами стероидчувствительного нефротического синдрома первичного хронического гломерулонефрита // Нефрология и диализ. – 2000. – Т. 2, № 3. – С. 96-108.
4. Ващурина Т.В., Сергеева Т.В. Цитокины и адгезивные молекулы в патогенезе хронического гломерулонефрита // Нефрология и диализ. – 2002. – № 3. – С. 232-239.
5. Джаналиев Б.Р., Пальцева Е.М., Варшавский В.А. и др. Экспрессия некоторых цитокинов и факторов роста при гломерулопатиях // Нефрология и диализ. – 2003. – № 3. – С. 211-215.
6. Жизневская И.И., Хмелевская И.Г. Клинико-лабораторные особенности гломерулопатий в детском возрасте // Врач-аспирант. – 2012 – № 4. – С. 76-84.
7. Жизневская И.И., Хмелевская И.Г. Прогностические критерии хронизации гломерулопатий в детском возрасте // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 7. – С. 319-323.
8. Игнатова М.С. Актуальные проблемы в нефрологии детского возраста в начале XXI века // Педиатрия. – 2007. – № 6. – С. 6-13.
9. Игнатова М.С. Патология органов мочевой системы у детей (современные аспекты) // Нефрология и диализ. – 2004. – № 2. – С. 127-132.
10. Игнатова М.С. Проблема прогрессирования болезней почек у детей и современные возможности ренопротекции // Нефрология и диализ. – 2005. – Т. 7, № 4. – С. 428-434.
11. Игнатова М.С. Распространенность заболеваний органов мочевой системы у детей // Рос. вестн. педиатр. и педиатр. – 2000. – № 1. – С. 24-29.
12. Мухин Н.А. Признаки, имитирующие активность хронического гломерулонефрита // Клиническая нефрология. – 2009. – № 2. – С. 10-16.
13. Панова Л.Д., Вахитова Л.И., Зиятдинова Д.Ф. Панова Л.Д. и др. Распространенность инвалидности вследствие заболеваний органов мочевой системы у детей Республики Башкортостан // Нефрология и диализ. – 2005. – Т. 7, № 1. – С. 92-93.
14. Поволяева Ю.А., Хмелевская И.Г. Клинико-иммунологические особенности сахарного диабета I типа у детей, проживающих в Курской области в зависимости от давности заболевания // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2010. – № 4. – С. 84-89.
15. Рагимова Р.Р., Азизова Г.И., Эфендиев А.М. Изучение некоторых цитокинов и иммунных параметров при хронической почечной недостаточности // Цитокины и воспаление. – 2009 – № 4. – С. 16-21.
16. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTIKA. – М.: Медиа Сфера, 2003. – 312 с.
17. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 1. – С. 9-16.
18. Федичева Н.А., Ханферян Р.А. Особенности цитокиновой регуляции при обострении хронического нефрита у больных с благоприятным и неблагоприятным исходом лечения // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – № 5. – С. 121-126.
19. Фримель Г. Иммунологические методы. – М.: Медицина, 1987. – 472 с.
20. Чеботарева Н.В., Бобкова И.Н., Козловская Л.В. и др. Значение нарушений механизмов самозащиты почки при хроническом гломерулонефрите // Клиническая нефрология. – 2011. – № 1. – С. 8-14.
21. Kitching A.R., Katerelos M., Mudge S.J. et al. Interleukin-10 inhibits experimental mesangial proliferative glomerulonephritis // Clin Exp Immunol. – 2002. – N128. – P. 36-43.
22. Hahn W.H., Cho B.S., Kim S.K. et al. Interleukin-1 cluster gene polymorphism in childhood IgA nephropathy // Pediatr Nephrol. – 2009. – N 24(7). – P. 1329-1336.
23. Zwiech R., Kacprzyk F., Szuflet A. et al. Prognostic values of serum concentration and urinary excretion of interleukin-1 receptor antagonist and tumor necrosis factor receptors type I and II in patients with IgA nephropathy // Pol Arch Med Wewn. – 2005. – N 113(4). – P. 326-333.