

© Н.Н.Корякова, 2005
УДК 616.611-002-036.12:576.2

Н.Н. Корякова

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗЛИЧНЫХ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ ХРОНИЧЕСКОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА

N.N.Koryakova

PATHOGENETICAL FEATURES OF DIFFERENT CLINICO-MORPHOLOGICAL VARIANTS OF CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS

Уральская государственная медицинская академия, г. Екатеринбург, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Выявление особенностей иммунопатогенеза различных клинико-морфологических вариантов хронического гломерулонефрита (ХГН) и оценка показателей цитокинов в сыворотке крови в зависимости от уровня протеинурии и концентрации креатинина крови. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Обследовано 65 пациентов с различными клинико-морфологическими вариантами ХГН. Исследовали показатели цитокинового профиля, а также зависимость этих показателей от уровня протеинурии и креатинина крови. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Исследования выявили наличие цитокинового дисбаланса у больных ХГН. Наиболее значительный дисбаланс цитокинов выявлен у больных с мембранопротеративным гломерулонефритом. Кроме этого у пациентов ХГН с креатининемией отмечен более высокий уровень в сыворотке крови фактора некроза опухоли. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Полученные данные свидетельствуют о наличии особенностей иммунопатогенеза различных вариантов ХГН и дают основания для поиска новых путей лечения этого заболевания.

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит (ХГН), патогенез, цитокины.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to reveal the features of immunopathogenesis of different clinico-morphological variants of chronic glomerulonephritis (CGN) and to assess the indices of cytokines in blood serum depending on the level of proteinuria and the concentration of blood creatinine. **PATIENTS AND METHODS.** The indices of the cytokine profile were investigated in 65 patients with different clinico-morphological variants of CGN and the dependence of these indices on the level of proteinuria and blood creatinine. **RESULTS.** The investigations have revealed a cytokine disbalance in CGN patients. The cytokine disbalance was most considerable in patients with membrane proliferative glomerulonephritis. In addition, the CGN patients with creatininemia had a higher level of the tumor necrosis factor in blood serum. **CONCLUSION.** The data obtained show that there are specific features of immunopathogenesis of different variants of CGN and make a basis for searching new ways for treatment of this disease.

Key words: chronic glomerulonephritis (CGN), pathogenesis, cytokines.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время хронический гломерулонефрит (ХГН) рассматривают как группу морфологически разнородных иммуновоспалительных заболеваний с преимущественным поражением клубочков, а также с вовлечением канальцев и межклубочковой ткани [1]. Каждый морфологический вариант имеет определенную клиническую картину, которая может быть представлена одним или сочетанием нескольких синдромов. В последние годы установлено, что разнообразие клинических и морфологических проявлений ХГН обусловлено особенностями иммунопатогенетических механизмов развития заболевания. Важнейшую роль в развитии гломерулярного повреждения играют цитокины.

Целью нашего исследования явилось выявление особенностей иммунопатогенеза различных

клинико-морфологических вариантов ХГН, а также оценка показателей цитокинов в сыворотке крови в зависимости от уровня протеинурии и концентрации креатинина крови.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 65 пациентов с различными клинико-морфологическими вариантами ХГН. Среди больных было 62,3% мужчин и 37,7% женщин в возрасте от 16 до 55 лет. Артериальная гипертензия наблюдалась у 64,6% больных. Продолжительность протеинурии (по срокам выявления изменений в общем анализе мочи) до включения в исследование составила от 6 до 32 месяцев.

При обследовании больных использовали морфологические и лабораторные методы исследования.

Для определения морфологических вариантов ХГН использовалась световая микроскопия. Гистологические срезы толщиной 3–4 мк окрашивали гематоксилином и эозином, конго красным, импрегнировали серебром по Джонсону, ставили Рас-реакцию. В группе мезангиопролиферативного гломерулонефрита уточнялся иммуноморфологический вариант с помощью дополнительного иммуногистохимического исследования на парафиновых срезах с использованием моноклональных антител IgA, IgM, IgG, комплемента C3, C1q (фирмы Dako Cytomation) и визуализационной системы для проведения пероксидазно-антипероксидазной (ПАП) методики.

Морфологические исследования выполнены в Центральной научно-исследовательской лаборатории Уральской государственной медицинской академии к.м.н. И.Е. Валаминой.

В результате морфологического исследования нефробиоптатов у 11 (16,9%) пациентов диагностирована мембранозная нефропатия (МН), у 19 (29,3%) – мембранопролиферативный (МБП) и у 35 (53,8%) – мезангиопролиферативный (МезП) варианты ХГН. В зависимости от морфологического варианта ХГН пациенты были разделены на 3 исследуемые группы. Первую группу составили больные с МезП-вариантом ХГН, вторую группу – пациенты с МН и третью группу – пациенты с МБП-вариантом ХГН. Более детально были обследованы пациенты с МезП-вариантом ХГН. В этой группе больных оценивали различия показателей цитокинового профиля в зависимости от уровня суточной протеинурии и концентрации креатинина крови. В рамках МезП-варианта ХГН с помощью иммуногистохимического исследования нефробиоптатов было выявлено 3 (8,5%) больных с IgA, 13 (37,1%) – с IgG и 19 (54,2%) – с IgM – нефропатиями. При данных иммуногистохимических вариантах мезангиопролиферативного гломерулонефрита была проведена оценка различий уровня цитокинов сыворотки крови.

Больным ХГН, а также 10 здоровым донорам (контрольная группа) устанавливали содержание следующих цитокинов в сыворотке крови: интерлейкина-1 бета (ИЛ-1 β), антагонистов рецепторов к ИЛ-1 β (ИЛ-1 β ра), фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерлейкина-8 (ИЛ-8). Для определения уровня цитокинов использовали иммуноферментные тест-системы ООО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург). Определение уровня цитокинов проводилось в иммунологическом отделе Центральной научно-исследовательской лаборатории Уральской государственной медицинской академии, заведующая отделом к.м.н. С.В. Казанцева.

Больным ХГН определяли суточную протеинурию и концентрацию креатинина в сыворотке крови, используя стандартные методики. Количество белка в моче измеряли по помутнению, образующемуся при добавлении сульфосалициловой кислоты. Результат реакции оценивали на фотоэлектроколориметре при длине волны 590–650 нм [2]. Креатинин определяли унифицированным методом по цветной реакции Яффе [3]. Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) рассчитывали по формуле Коккрофта и Галта [4].

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи компьютерной программы для статистического анализа «Statistica 6.0». Для оценки нормальности распределения количественных признаков применялась визуальная оценка частотного распределения с последующей оценкой нормальности с использованием критерия Шапиро–Уилка. Показатели, подчиняющиеся нормальному распределению, представляли в виде $\bar{X}$ (среднее значение) и стандартной ошибки среднего (m). Показатели, распределение которых отличалось от нормального, описывали при помощи медианы и интерквартильного размаха (25-й и 75-й процентиля).

Для сравнения нескольких независимых групп применялся однофакторный дисперсионный анализ. Достоверность различия между группами рассчитывалась по критерию множественных сравнений Тьюки–Крамера при нормальном распределении параметров. При ненормальном распределении использовался критерий множественных сравнений Краскела–Уолиса. При выявлении статистических различий между группами проводили парное сравнение групп с использованием критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони при нормальном распределении и критерия Манна–Уитни с поправкой Бонферрони при ненормальном распределении признака в исследуемых группах.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительный анализ клинико-лабораторных показателей обследованных больных (табл. 1) не выявил статистически значимых различий в группах пациентов с МН, МезП и МБП вариантами ХГН по полу, возрасту, длительности протеинурии, уровню суточной протеинурии, креатинина сыворотки крови и СКФ.

Результаты исследования уровня цитокинов в крови больных с различными морфологическими вариантами ХГН представлены в табл. 2. Как видно из табл. 2, в группе больных с МН уровень ИЛ-1 β превышал значения данного показателя в группе здоровых доноров, однако различия статистичес-

Клинико-лабораторная характеристика больных с различными морфологическими вариантами ХГН ($\bar{X} \pm m$)

Показатель	МЗП (n=35)	МН (n=11)	МП (n=39)
Мужчин (%)	68,57	57,14	57,89
Женщин (%)	31,43	42,86	42,11
Возраст (годы)	39,37±6,84	42,3±5,81	37,68±5,33
Продолжительность протеинурии (мес.)	18,5(6,3;25,6)	15,4(5,2;24,3)	14,3(6,4;18,2)
Уровень суточной протеинурии, г.	2,2±0,61	2,8±0,95	2,6±0,85
Уровень креатинина крови, мм/л	0,09±0,03	0,10±0,02	0,11±0,04
СКФ, мл/мин	105,7±28,5	101,3±22,6	98,34±18,7

Примечание. Достоверных различий показателей в исследуемых группах больных не выявлено.

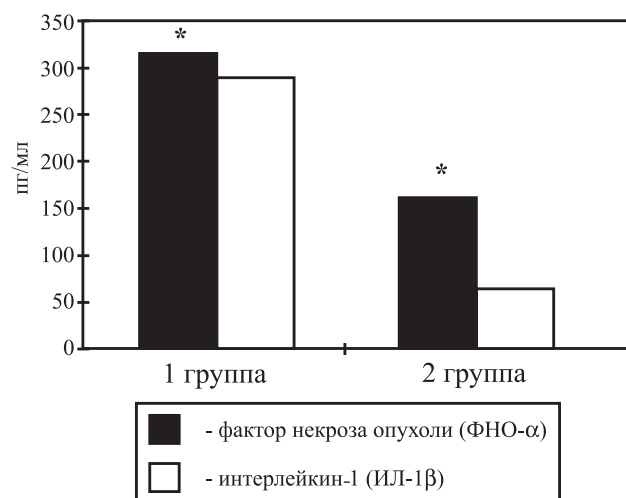
Уровень цитокинов в сыворотке крови у больных с различными морфологическими вариантами ХГН ($\bar{X} \pm m$)

Показатель пг/мл	Здоровые (n=10)	МН (n=11)	МезП (n=35)	МБП (n=19)
ИЛ-1β	34,4±11,9 ^{3,4}	46,97±19,43	319,79±81,9 ^{1,2}	146,3±43,46 ^{1,2}
Ил-1β ра	110,9±47,8 ^{2,3,4}	59,4±17,5 ^{1,3,4}	325,47±146,3 ^{2,4}	0,22±0,004 ^{1,2,3}
ФНО-α	20,0±7,34 ^{2,3,4}	303,4±68,9 ^{1,3}	135,6±43,95 ^{1,2,4}	869,5±110,3 ^{1,3}

¹ – различия достоверны по сравнению с группой контроля; ² – различия достоверны по сравнению с МН; ³ – различия достоверны по сравнению с группой МезП-варианта ХГН; ⁴ – различия достоверны по сравнению с группой МБП-варианта ХГН.

ки не значимы. В то же время, в группах больных с МезП- и МБП-вариантами ХГН уровень ИЛ-1β был достоверно выше, чем в группе здоровых доноров (соответственно, $p < 0,001$ и $p < 0,01$) и в группе больных с МН (соответственно, $p < 0,001$ и $p < 0,01$).

Анализ различий уровня ИЛ-1β ра в исследуемых группах показал, что у больных с МН и МБП-вариантами ХГН данный показатель был достоверно ниже контрольного уровня (соответственно, $p < 0,01$ и $p < 0,001$), при этом особенно низ-



Уровень цитокинов сыворотки крови у пациентов с мезангиопротрофическим вариантом ХГН с различной концентрацией креатинина крови. 1 – группа пациентов с уровнем креатинина крови $> 0,10$ мм/л (n=16); 2 – группа пациентов с уровнем креатинина крови $< 0,10$ мм/л (n=19); * – различия между группами достоверны ($p < 0,05$).

кий уровень ИЛ-1β ра наблюдался у больных с МБП-вариантом ХГН. Так, уровень ИЛ-1β ра у больных МБП-вариантом ХГН был статистически значительно ниже, чем в группах больных с МН и МезП-вариантом ХГН (соответственно, $p < 0,01$ и $p < 0,001$). В то же время у пациентов с МезП уровень ИЛ-1β ра значительно превышал контрольные показатели, хотя различия статистически не значимы.

Уровень ФНО-α во всех исследуемых группах (МН, МезП и МБП) достоверно превышал соответствующие контрольные показатели (соответственно, $p < 0,01$, $p < 0,01$ и $p < 0,001$). Наблюдались также существенные различия уровня данного цитокина в группах с различными вариантами ХГН. Так, у больных с МЗП вариантом ХГН уровень ФНО-α был достоверно ниже, чем в группах пациентов с МН и МБП-вариантом ХГН ($p < 0,01$ и $p < 0,001$). Уровень ИЛ-8 в контрольной и в исследуемых группах больных не определялся.

При анализе показателей цитокинового профиля у больных с МезП ХГН в зависимости от уровня протеинурии достоверных различий не выявлено.

Показатели цитокинового профиля у больных МезП-вариантом ХГН с различным уровнем протеинурии ($\bar{X} \pm m$)

Показатель	Уровень суточной протеинурии (г/с.)	
	менее 2 г/с. (n=13)	более 2 г/с. (n=22)
ИЛ-1	313,45 ± 96,4	346,15 ± 90,82
Ил-1β ра	308,24 (75,6;420,8)	194,59 (98,8;240,4)
ФНО	118,42 (70,8; 140,7)	194,51 ± 11,45

Примечание. Достоверных различий показателей в исследуемых группах больных не выявлено.

Уровень цитокинов в сыворотке крови у больных с различными иммуногистохимическими вариантами МезП гломерулонефрита ($\bar{X} \pm m$)

Показатель пг/мл	IgA (n=5)	IgG (n=12)	IgM (n=18)
ИЛ-1β	386,33±78,2	269,28±93,2	304,36±82,6
Ил-1β ра	349,4±97,64	289,59±86,37	128,02±39,54
ФНО-α	83,04±38,91	115,61±46,37	164,17±57,39

Примечание. Достоверных различий показателей в исследуемых группах больных не выявлено.

(табл. 3). В то же время у больных МезП-вариантом ХГН с повышенным уровнем креатинина крови выявлено достоверное повышение ФНО- α , по сравнению с пациентами, имеющими нормальные значения данного показателя ($p < 0,001$). У больных МезП-вариантом ХГН с повышенным уровнем креатинина крови отмечено также повышение уровня ИЛ-1 β , хотя различия статистически не значимы (рисунок).

При оценке различий уровней цитокинов при IgA, Ig G и IgM иммуногистохимических вариантах МезП гломерулонефрита достоверных различий не выявлено (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

В последние годы в литературе появилось довольно много сообщений, свидетельствующих о важной роли цитокинов в развитии гломерулярного воспаления. Так, участие цитокинов в развитии гломерулонефрита было доказано в экспериментальных моделях на животных [5]. Джаналиев Б.Р. и соавт. (2003) с помощью иммуногистохимических исследований определили экспрессию различных цитокинов в нефробиоптатах больных с ХГН [6]. Однако результаты клинических исследований, посвященных изучению участия цитокинов в развитии и прогрессировании ХГН, противоречивы. Так, ряд авторов сообщают о повышении уровня провоспалительных цитокинов, в то же время данные других исследований не подтверждают этот факт [7–9].

Результаты наших исследований свидетельствуют об участии цитокинов в развитии гломерулярного воспаления, при этом во всех группах исследуемых больных обнаружено повышение уровня провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α). Обращают на себя внимание выявленные нами различия цитокинового профиля у больных с пролиферативными вариантами ХГН в сравнении с МН. Так, при МезП- и МБП-вариантах ХГН было отмечено более высокое повышение ИЛ-1 β , чем при МН. Полученные результаты свидетельствуют о различиях патогенетических механизмов течения исследуемых вариантов ХГН и подтверждают мнение ряда авторов о том, что, возможно, такие варианты поражения почек, как МН, следует исключить из группы гломерулонефритов, в связи с отсутствием воспалительного процесса в гломерулах [10, 11]. Справедливость данного положения подтверждается также отсутствием статистически значимых различий уровня ИЛ-1 β в крови больных МН и здоровых доноров. Нами также отмечен более высокий уровень ФНО- α у пациентов с МН и МБП-вариантом ХГН, чем ве-

роятно обусловлено более тяжелое морфологическое повреждение гломерулярных структур.

В нашем исследовании был выявлен цитокиновый дисбаланс, наблюдающийся у больных всех исследуемых групп и проявляющийся снижением противовоспалительной цитокиновой активности плазмы при повышенном уровне провоспалительных цитокинов. При этом наиболее низкий уровень ИЛ β -1 ра наблюдался у больных с МБП-вариантом ХГН, что также может обуславливать более тяжелую морфологическую картину гломерулярного поражения при этом заболевании. Обращает на себя внимание отсутствие ИЛ-8, являющегося хемокином, привлекающим нейтрофилы в очаг воспаления, в сыворотке крови больных всех исследуемых групп. Данный факт, вероятно, можно объяснить тем, что в отделение нефрологии Свердловской областной клинической больницы, как правило, поступают пациенты из отдаленных районов, уже имеющие определенный стаж болезни. При исследовании нефробиоптатов этих пациентов, в гломерулярных воспалительных инфильтратах чаще всего отсутствовали нейтрофилы, наличие которых обычно характеризует высокую активность болезни, чаще в дебюте заболевания.

В нашем исследовании не было выявлено зависимости уровня цитокинов крови от показателей суточной протеинурии. Трактовка данных результатов затруднена в связи с тем, что при достаточно высокой протеинурии, свидетельствующей о повышенной проницаемости гломерулярного фильтра, возможна потеря цитокинов с мочой с соответствующим снижением их уровня в крови.

Анализ результатов определения уровня цитокинов у пациентов с различными показателями концентрации креатинина в крови выявил достоверно более высокий уровень ФНО- α у больных, имеющих повышенный уровень креатинина крови, что согласуется с данными исследований других авторов, свидетельствующих о повышении уровня провоспалительных цитокинов при развитии хронической почечной недостаточности [12]. Исследование уровней цитокинов у пациентов с IgA, IgM и IgG нефропатиями не выявило достоверных различий, однако возможно это обусловлено небольшим количеством обследованных больных с данными вариантами МезП гломерулонефрита.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования позволили не только выявить важную роль цитокиновых взаимодействий в патогенезе ХГН, но и констатировать различия цитокинового профиля при разных клинико-морфологических вариантах ХГН. Даль-

нейшие исследования в этом направлении могут способствовать повышению эффективности лечения различных клинико-морфологических вариантов ХГН и предупреждению развития хронической почечной недостаточности.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Тареева ИЕ, Шилов ЕМ, Краснова ТН. *Лечение гломерулонефритов*. Novartis pharma services Inc, М, 2000; 5
2. Меньшиков ВВ. *Лабораторные методы исследования в клинике*. Медицина, М, 1987; 48-50
3. Меньшиков ВВ. *Лабораторные методы исследования в клинике*. Медицина, М, 1987; 219 – 221
4. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16: 31
5. Богомазов СЮ, Гладских ОП, Иванов АА и др. Цитокины и внеклеточный матрикс при экспериментальных гломерулопатиях. *Арх Патол* 1997; 6: 45-50
6. Джаналиев БР, Пальцева ЕМ, Варшавский ВА и др. Экспрессия некоторых цитокинов и факторов роста при гломерулопатиях. *Нефрология и диализ* 2003; 3: 211-215
7. Пальцев МА, Иванов АА. Возможные механизмы развития гломерулосклероза при нефропатиях различного генеза. *Арх Патол* 1994; 6: 13-16
8. Kacprzyk F, Cbizarowski W. Tumor necrosis factor (TNF) and interleukin-6 (IL-6) in patients with glomerulonephritis. *Pol Arch Med Wewn* 1996; 96: 224-233
9. Obta K, Takano N, Seno A et al. Detection and clinical usefulness of urinary interleukin-6 in the diseases of the kidney and the urinary tract. *Clin Nephrol* 1992; 38: 185-189
10. Серов ВВ, Варшавский ВА. Что называть гломерулонефритом: спорные вопросы классификации. *Арх Патол* 1987; 1: 67-75
11. Couser WG. Pathogenesis of glomerular damage in glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13 [suppl 1]: 10-15
12. Гейниц ОА, Калюжин ВВ, Пак ЮД и др. Цитокиновый статус у пациентов с хронической почечной недостаточностью. *Сборник трудов XII ежегодного Санкт-Петербургского нефрологического семинара*. Санкт-Петербург, 2004; 33

Поступила в редакцию 14.10.2004 г.