

УДК 616.611-002-036.12-02:579.887.11:612.017.1

Патогенетические цитокиновые механизмы прогрессирования хронического гломерулонефрита в условиях микоплазменной инфекции

*Ж.Д. Семидоцкая, М.А. Власенко, А.П. Браславская, Е.М. Власенко**Харьковская медицинская академия последипломного образования, Харьковский национальный медицинский университет***Ключевые слова:** хроническая болезнь почек, хронический гломерулонефрит, микоплазменное инфицирование, ИЛ-1 β , ИЛ-10

Одной из основных проблем современной клинической нефрологии является рост распространенности хронической болезни почек (ХБП), вследствие прогрессирования которой формируется хроническая почечная недостаточность (ХПН) вплоть до терминальной степени, требующей лечения в виде методов заместительной почечной терапии (ЗПТ) [1]. В структуре ХБП хронический гломерулонефрит (ХГН) занимает лидирующее место среди первичных заболеваний почек и характеризуется преимущественным поражением лиц молодого возраста, ранней потерей трудоспособности и инвалидизацией больных [1,7]. При всех значительных достижениях современной нефрологии в плане исследования механизмов прогрессирования ХГН, до сих пор часто остается невыясненным этиологический момент развития данной патологии почек, в том числе инфекционный, и соотношение иммунных и неиммунных механизмов прогрессирования заболевания [7]. Микоплазмы, вне зависимости от вида, являются представителями группы полиэтиологических заболеваний. Специфическая терапия острого микоплазмоза как правило не сопровождается гибелью возбудителя, а способствует переходу инфекционного процесса в латентную форму и протекания в виде хронически-рецидивирующего заболевания, основой патогенеза которого является персистенция инфекта [2]. При персистенции микоплазм в инфицированном организме клиническое выражение инфекционного процесса в значительной степени зависит не от инфекционного агента как такового, а от особенностей иммунореактивности организма хозяина [2,9]. Активация персистирующей микоплазменной инфекции происходит при иммунной дисфункции и под влиянием различных стрессовых ситуаций. Специфика взаимоотношения микоплазм с клетками инфицированного организма в виде межмембранного обмена поверхностными антигенными компонентами с образованием общих антигенных комплексов и их выбросом во внутреннюю среду организма и формированием ЦИК, наличием общих антигенных детерминант клеток эукариот и микоплазм, непосредственное цитопатическое и цитотоксическое влияние *M. pneumoniae et hominis* на эпителиальные, эндотелиальные и антигенпредставляющие клетки (АПК) за счет продукции про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-12, γ -IFN, TNF- α) обуславливают развитие аутоиммунных и иммунопатологических реакций [8,9]. Работа выполнена в рамках научной программы кафедры пропедевтики внутренней медицины №2 Харьковского национального медицинского университета и является фрагментом комплексной научно-исследовательской работы: «Роль инфекционной концепции в возникновении, хронизации и течения воспалительных заболеваний почек» (№ госрегистрации 01980002623).

Цель работы

-изучить влияние инфицирования *M. pneumoniae et hominis* и содержание провоспалительного (ИЛ-1 β) и противовоспалительного (ИЛ-10) цитокинов у больных ХБП IV ст.: гломерулонефритом с нефротическим синдромом (НС).

Материал и методы

Проведено обследование 23 больных хроническим гломерулонефритом, 11 женщин и 12 мужчин в возрасте от 18 до 52 лет, в условиях отделения нефрологии Харьковского областного клинического центра урологии и нефрологии (ХОКЦУН). Контрольную группу составляли 10 практически здоровых лиц – доноров крови в возрасте от 20 до 45 лет: 5 мужчин и 5 женщин.

Нефротический синдром диагностировался на основании клинико-лабораторных показателей: суточной потери белка с мочой более 3,5 г/л, гипопротеинемии менее 60 г/л и отечного синдрома. Изучаемые показатели сравнивались с аналогичными данными неинфицированных больных хроническим гломерулонефритом (ХГН) (ДНК-) и с показателями здоровых лиц (Контроль). Иммунологические исследования проводились на базе иммунологической лаборатории ХОКЦУН. Изучались уровни провоспалительных (ИЛ-1 β) и противовоспалительных (ИЛ-10) цитокинов. Диагностика микоплазменной инфекции проводилась на основании обнаружения генетического материала (ДНК) *M.pneumoniae et hominis* в биологическом субстрате (моча) методом ПЦР. В зависимости от наличия или отсутствия ДНК *M.pneumoniae et hominis* больные ХБП IV ст.: ГН с НС были разделены на 2 группы следующим образом: больные ХГН без ДНК возбудителя (ДНК-) – 16 пациентов (69%), больные ХГН с ДНК *M.pneumoniae et hominis* (ДНК+) – 7 пациентов (31 %).

Количественное определение цитокинов в сыворотке крови проводилось твердофазным ИФА методом с применением наборов реагентов ProCon IL-1 β (С.-Петербург) и IL-10 ELISA (IBL, Hamburg). Статистическую обработку данных производили при помощи прикладных программ Statistica 6.0 для Windows с использованием параметрических методов сравнения. Оценка достоверности в сравнимых группах (p) проводилась с помощью критерия Стьюдента-Фишера (t). Расхождения считались достоверными при значении $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При исследовании лабораторных показателей у всех инфицированных больных (ДНК+) ХБП IV ст.: ГН с НС вне зависимости от вида микоплазменного агента отмечен достоверный более высокий уровень суточной протеинурии на фоне изменений показателей общего белка и липидного профиля. Показатели мочевины, креатинина и электролитов плазмы крови у инфицированных (ДНК+) и неинфицированных (ДНК-) больных ХБП IV ст.: ГН с НС, достоверно не отличались между собой. Содержание холестерина, мочевины, креатинина, суточная потеря белка статистически значимо отличались во всех группах обследуемых больных от аналогичных показателей в контрольной группе референтных значений.

Табл. 1.

Основные биохимические константы и показатели суточной протеинурии у больных хронической болезнью почек IV ст.: гломерулонефритом с нефротическим синдромом.

Показатель	Больные ХГН с ДНК (-) <i>M.pneumoniae et hominis</i> N = 16	Больные ХГН с ДНК (+) <i>M.pneumoniae et hominis</i> N = 7	Практически здоровые N = 10
Суточная протеинурия (г/л)	6,12 $\pm$ 2,34 P1 < 0,05	9,11 $\pm$ 1,29 P1 < 0,05, P2 < 0,05	0,03 $\pm$ 0,005
Общий белок (г/л)	57,58 $\pm$ 6,85	53,6 $\pm$ 3,04 P1 < 0,05	76,7 $\pm$ 3,3
Общий холестерин (ммоль/л)	7,05 $\pm$ 1,12 P1 < 0,05	7,64 $\pm$ 1,22 P1 < 0,05	3,8 $\pm$ 0,9
Мочевина (ммоль/л)	17,05 $\pm$ 1,12 P1 < 0,05	18,2 $\pm$ 2,09 P1 < 0,05	5,03 $\pm$ 1,05
Креатинин (мкмоль/л)	384,9 $\pm$ 50,8 P1 < 0,05	413,2 $\pm$ 36,18 P1 < 0,05	69,5 $\pm$ 11,2
Na ⁺ (ммоль/л)	154,8 $\pm$ 1,96	132,7 $\pm$ 0,96	143,8 $\pm$ 0,96
K ⁺ (ммоль/л)	4,47 $\pm$ 0,64	3,8 $\pm$ 0,12	4,47 $\pm$ 0,64

1. P1 < 0,05 - достоверность разности показателей группы контроля K1 и групп больных ХБП IV ст.: гломерулонефритом. 2. P2 < 0,05 - достоверность разности показателей у групп больных ХБП IV ст.: гломерулонефритом с (ДНК+) микоплазм и больных ХБП IV ст.: гломерулонефритом без инфицирования (ДНК -).

У больных ХБП 1Vст.: ГН с НС с ДНК(+) *M.pneumoniae et hominis* в биологическом субстрате (моча) имела отчетливая тенденция к нарастанию уровня общего холестерина ($7,64 \pm 1,22$ мм/л) по сравнению с уровнем общего холестерина ($7,05 \pm 1,12$ мм/л) у больных ХБП IV ст.: гломерулонефритом с НС без инфицирования микоплазмами (ДНК-) при сравнимом для обеих групп уровне азотемии на фоне тенденции к снижению содержания общего белка у больных ХГН с (ДНК+) ($57,58 \pm 6,85$ г/л и $53,6 \pm 3,04$ г/л соответственно).

Изучение уровня продукции цитокинов, характеризующих функциональную активность определенных популяций Т-лимфоцитов, позволяет оценить более тонкие механизмы иммунных процессов. Полученные данные о содержании в сыворотке крови больных ХГН ИЛ-1β и ИЛ-10 представлены в виде табл. 2.

Таблица 2.

Содержание ИЛ-1β и ИЛ-10 в плазме крови больных ХБП IV ст.: гломерулонефритом с нефротическим синдромом.

Показатель	Практически здоровые N = 10	Больные ХГН с ДНК (+) <i>M.pneumoniae et hominis</i> N = 7	Больные ХГН с ДНК (-) <i>M.pneumoniae et hominis</i> N = 16	P
ИЛ-1β	$10,72 \pm 3,4$	$90,16 \pm 10,52^*$	$43,3 \pm 8,43^*$	$P < 0,01$
ИЛ-10	$7,99 \pm 0,73$	$33,9 \pm 7,53^*$	$23,51 \pm 6,02^*$	$P < 0,05$
ИЛ-1β/ ИЛ-10	1,34	2,66*	1,84*	$P < 0,05$

1. * - достоверность разницы показателей группы здоровых и групп больных с хроническим гломерулонефритом (ГН);
2. P — достоверность разности показателей у групп больных ГН с ДНК(+) и больных ГН с ДНК(-)

Более чем 8-кратное повышение сывороточного уровня ИЛ-1β у больных с ДНК *M.pneumoniae* и ДНК *M.hominis* по сравнению с референтными значениями (К1) и повышение концентрации ИЛ-1β у больных с ДНК *M.pneumoniae* и *M.hominis* более чем в 2 раза по сравнению с больными ГН без инфицирования (ДНК-) свидетельствует о повреждающем характере клеточного инфекта на базальную мембрану нефрона, что имеет клиническое подтверждение в виде более массивной протеинурии, сопровождающееся более выраженной гиперхолестеринемией, гипопроteinемией и отеком синдромом в виде уремического интерстициального отека легких. Гиперпродукция ИЛ-1β, стимулирующего активность моноцитарно-макрофагальной системы, опосредованно влияет на изменения в БМК прежде всего через ИЛ-2, вызывающего протеинурию и сокращение анионных участков БМК и ИЛ-8, повышенный уровень которого в эксперименте индуцирует альбуминурию посредством нарушения метаболизма сульфатных компонентов БМК со снижением ее анионного заряда [10]. Кроме того, ИЛ-1β модулирует синтез противовоспалительного ИЛ-4, содержание которого в сыворотке крови детей с НС коррелирует с уровнем протеинурии [10]. Увеличение уровня ИЛ-10, контролирующего продукцию ИЛ-12, можно рассматривать как защитную реакцию, способную оказывать регулирующее противовоспалительное действие, так как в ряде экспериментальных работ показано, что ИЛ-10 совместно с ИЛ-4 и ИЛ-13 способен подавлять спонтанную и стимулированную продукцию фактора сосудистой проницаемости мононуклеарами периферической крови больных с НС [3,10]. Однако более информативным является соотношение содержания про- и противовоспалительных цитокинов, коэффициент которого свыше 1,5 ассоциируется с развитием реакций гиперчувствительности замедленного типа [3]. ИЛ-10, являясь одним из ключевых цитокинов, определяющим направленность иммунного ответа, подавляет клеточный и стимулирует гуморальный ответ, что в условиях внутриклеточного персистирования микоплазменного инфекта способствует генерализации инфекции и развитию аутоиммунных нарушений [3,9].

Единство механизмов дезадаптивного ремоделирования таких органов как почки, миокард и сосудистая стенка, поражение которых часто взаимообусловлено и сопряжено, позволило сформулировать концепцию кардиоренального синдрома, в основе которого лежит активация эндотелийзависимого звена гемостаза [7]. Формирование эндотелиальной дисфункции в условиях микоплазменного персистирования в организме человека возможно посредством влияния инфекта на NO-синтазную активность прежде всего индуцибельной NO-синтазы (i-NOS), которая активируется бактериальными эндотоксинами и провоспалительными цитокинами I-го поколения: ИЛ-1, ИЛ-6 и TNF-α, продуцируемых преимущественно АПК, и которые способны оказывать долговременный и общий (системный) эффект [6]. Выявление признаков микоплазменного инфицирования в 30% образцов биоптатов атеросклеротических бляшек при электронно-микроскопическом исследовании позволило предположить связь микоплазменного персистирования и процессов атерогенеза [4]. Существование микоплазм невозможно без холестерина и его производных, аминокислот и предшественников нуклеиновых кислот и микоплазмы извлекают необходимый им субстрат, вмешиваясь в обмен клеточной мембраны эндотелиоцита, влияя таким образом на основные функции эндотелия: поддержание циркуляции и реологических свойств крови, модуляцию тромбоцитарной и лейкоцитарной адгезии, трансмиграции лейкоцитов, функционирование гладкомышечных клеток

и поддержание сосудистого тонуса [5,7]. Активация i-NOS, которая повышает содержание в тканях окись азота (NO), в условиях самостоятельной продукции *M.pneumoniae* супероксидных анионов и перекисей, приводит к образованию высокотоксичного пероксинитрита (ONOO-), усилению перекисного окисления липидов, формированию окислительного стресса и синтезу профиброгенных факторов [4]. По современным представлениям окислительный стресс лежит в основе развития почечного фиброза и прогрессирования ХБП вне зависимости от ее этиологии [6]. Таким образом, длительная по времени гиперпродукция провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8 и TNF- α) стимулированная микоплазменным персистированием, оказывает негативный и дезадаптивный эффект, нарушая эндотелийзависимый механизм релаксации сосудов, активируя коагуляционный каскад и тромбогенез, избыточное развитие внеклеточного коллагенового матрикса, стимулируя процессы апоптоза клеток органа-мишени посредством связывания TNF- α с Fas-рецепторами, что приводит к активации факторов транскрипции, металлопротеиназ, экспрессии рецепторов ряда цитокинов, ангиотензина II, простагландинов, адренергических агонистов [3, 5]. *M.pneumoniae* и *M.hominis*, активируя выработку всех основных провоспалительных цитокинов, в том числе и IFN- γ , могут модулировать проапоптотическую активность IFN, а также напрямую влиять на индукцию апоптоза посредством активации гена интерлейкин-1 β -конвертируемого фермента [3]. Свою негативную биологическую роль на ремоделирование почечной ткани играет и нарушение баланса между про- и противовоспалительными цитокинами (ИЛ-1 β и ИЛ-10), что было убедительно доказано на «цитокиневой» модели патогенеза хронической сердечной недостаточности (ХСН) независимо от ее этиологии [6]. Мы считаем, что параллельное однонаправленное дезадаптивное влияние *M.pneumoniae* и *M.hominis* на иммунные и эндотелийзависимые механизмы прогрессирования ХГН приводят к ускоренному развитию ремоделирования почечной ткани, клиническим эквивалентом которого является быстрое формирование терминальной ХПН, требующей применения дорогостоящих методов заместительной почечной терапии.

Выводы

Реализация иммунного ответа при микоплазменном инфицировании сопровождается гипериндуктивным цитокиновым воспалительным ответом с повышением уровня про- и противовоспалительных цитокинов (интерлейкин-1 β и интерлейкин-10) и дисрегуляцией соотношения ИЛ-1 β /ИЛ-10 в сторону повышения продукции провоспалительных цитокинов.

Наличие ДНК *M.pneumoniae* et *hominis* в биологическом субстрате (моча) у больных ХБП 1Vст.: ГН с НС ассоциируется с достоверной максимальной суточной протеинурией.

Наличие ДНК *M.pneumoniae* et *hominis* в биологическом субстрате (моча) у больных ХБП 1Vст.: ГН с НС сопровождается отчетливой тенденцией к изменению липидного профиля в виде повышения уровня общего холестерина плазмы крови.

Литература.

1. Бильченко А.В. Хроническая болезнь почек / А.В. Бильченко // *Аіки України*. – 2008. - №9. - С. 26-30.
2. Борхсеніус С.Н. Взаимодействие микоплазм с иммунной системой животных и человека / С.Н. Борхсеніус, О.А. Чернова, В.М. Чернов // *Цитология*. – 2001. - №43(3). - С.219-243.
3. Бурместер Г.Р. Наглядная иммунология / Г.Р. Бурместер, А. Пеунтто; пер. С. англ. Т.П. Мосолова.- Москва: БИНОМ.Лаборатория знаний, 2007.- 321 с.
4. Микоплазменные инфекции и инфаркт миокарда / П.П. Арлеевский, О.А. Чернова, А.А. Ганева [и др.] // *Российский кардиологический журнал*. – 2003. - №4. – С. 17-27.
5. Топчий П.П. Взаимосвязь изменений антиоксидантной системы и метаболизма оксида азота у больных хронической болезнью почек с артериальной гипертензией / П.П. Топчий Т.В. Горбач, Т.Н. Бондарь // *Серце і судини*. – 2006. - №1.-С. 89-94.
6. «Цитокиновая» модель патогенеза хронической сердечной недостаточности и возможности нового терапевтического подхода в лечении декомпенсированных больных / Ю. В. Васюк, О.П. Дударенко, Е.Н. Ющук [и др.] // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии* – 2006.- №4.- С. 63-71.
7. Шилов Е.М. Нефрология / Евгений Михайлович Шилов // Москва: Гэотар-Медиа, - 2007. – 683 с. (Учебное пособие для послевузовского образования)
8. Cytokines in *Mycoplasma pneumoniae* infection. / J.Yang, W.C. Hooper, D.J. Phillips [et al] // *Cytokines & Growth Factor Rev.* – 2006. – Vol. 15 – № 2–3. – P.157–168.
9. Razin S. Molecular Biology and Pathogenicity of *Mycoplasmas*. / S. Razin, D. Yager, Y. Naot // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 1998. - Vol. 64.- P.1094-1156.
10. Value of Pretransplantation Cytokine Profiles for Predicting Acute Rejection in Renal Transplant Recipients / A. Amirzargar, M. Lessan-Pezeshki, A. Fathi. [et. al.] // *NDT*. – 2005. – Vol.37, №7. – P. 2982 – 2984.

Патогенетичні цитокинові механізми прогресування хронічного гломерулонефриту в умовах мікоплазмозного інфікування.

Ж.Д. Семідоцька, М.А. Власенко, А.П. Браславська, О.М. Власенко

Мікоплазми можуть бути етіологічним фактором хронічної хвороби нирок, у тому числі й хронічного гломерулонефриту. При обстеженні 23 хворих хронічним гломерулонефритом у 31 % пацієнтів в сечі була виявлена ДНК *M.pneumoniae* і *M.hominis*. Також в інфікованих мікоплазмою хворих у плазмі крові спостерігалися

зміни вмісту інтерлейкіну-1 β і інтерлейкіну-10 та їхнього співвідношення в

порівнянні із хворими гломерулонефритом без інфікування та здорових донорів, що асоціювалось з вірогідною максимальною добовою протеїнурією і тенденцією до підвищення вмісту загального холестерину.

Ключові слова: хронічна хвороба нирок, хронічний гломерулонефрит, мікоплазмове інфікування, ІЛ-1 β , ІЛ-10

Pathogenic cytokine mechanisms of progression chronic glomerulonephritis in mycoplasma infection

J.D. Semidotska, M.A. Vlasenko, A.P. Braslavskaya H.M. Vlasenko

Mycoplasma infection can lead to end-stage renal disease such as chronic glomerulonephritis. During inspection 23 patients with chronic glomerulonephritis by occasion of mycoplasma infection were found to have a DNA M.pneumoniae and M.hominis in about 31 % of patients. The present study also delineated the changes of interleukin-1 β and interleukin-10 production and its ratio in blood serum in uraemic patients, infected by M.pneumoniae и M.hominis, in comparison with non-infected patients and healty donors.

Key words: chronic kidney disease, chronic glomerulonephritis, mycoplasma infection interleukin-1 β , interleukin-10