

К ВОПРОСУ О ПАТОГЕНЕЗЕ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА С ИЗОЛИРОВАННЫМ МОЧЕВЫМ СИНДРОМОМ

Карзакова Л.М., Автономова О.И., Кудряшов С.И., Комелягина Н.А., Гаврилова Э.С., Луткова Т.С.

ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», Чебоксары, e-mail: luizak58@mail.ru

Цель исследования – изучение особенностей продукции про- и противовоспалительных цитокинов, а также показателей адаптивного иммунного ответа у пациентов с латентным вариантом гломерулонефрита (ГН). Проведено обследование 116 больных первичным ГН, в том числе 30 пациентов с латентным ГН и 48 больных ГН с различными клиническими синдромами (нефротический, гипертонический). Лабораторные исследования включали определение концентрации основных циркулирующих в крови цитокинов – IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ и рецепторного антагониста IL-1 β – Ra-IL-1 β методом ИФА, а также показателей адаптивного иммунитета. Полученные данные позволяют заключить, что у больных ГН с исходно сниженной продукцией IL-1 β на фоне повышенного уровня образования IL-10 и сдвига баланса активности адаптивного иммунного ответа в сторону преобладания клеточного звена, связанного с функцией Th1, создаются условия для развития бессимптомного варианта ГН.

Ключевые слова: гломерулонефрит, изолированный мочевого синдром, циркулирующие цитокины, адаптивный иммунитет.

TO THE QUESTION OF THE GLOMERULONEPHRITIS PATHOGENESIS WITH THE ISOLATED URIC SYNDROME

Karzakova L.M., Avtonomova O.I., Kudryashov S.I., Komelyagina N.A., Gavrilova E.S., Lutkova T.S.

Chuvash State University n.a. I.N. Ulyanov, Cheboksary, e-mail: luizak58@mail.ru

The purpose of the research – studying the features of the production of pro- and anti-inflammatory cytokines, as well as indicators of adaptive immunity in patients with latent variant of glomerulonephritis (GN). The examination involved 116 patients with primary GN, including 30 patients with latent GN and 86 GN patients who had different clinical syndromes (nephrotic, hypertensive). Laboratory researches included the determination of the concentration of the main cytokines circulating in the blood – IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ and the receptor antagonist of IL-1 β – Ra-IL-1 β by the method ELISA and also indexes of adaptive immunity. The obtained data allow us to conclude that there are created conditions for development of asymptomatic option of GN in GN patients with initially lowered production of IL-1 β against the increased level of the formation of IL-10 and shift of activity balance of the adaptive immune response towards the dominance of cellular link associated with the Th1 function.

Keywords: glomerulonephritis, isolated uric syndrome, circulating cytokines, adaptive immunity.

Изучение патогенетических механизмов развития различных клинических вариантов гломерулонефрита (ГН), в том числе латентного варианта, продолжает оставаться серьезной проблемой современной медицины в связи с тем, что ГН является преобладающей причиной развития нефросклероза и последующего развития терминальной хронической почечной недостаточности, требующей дорогостоящей заместительной терапии [1; 5]. Пристальное внимание исследователей к обозначенной проблеме объясняется к тому же отсутствием эффективных патогенетических способов лечения латентного ГН.

Латентный ГН (или мочевого вариант ГН) – гломерулярное заболевание с изолированным мочевым синдромом. Данный вариант заболевания протекает без

субъективных ощущений, клинические и лабораторные признаки скудны. В последние годы получены убедительные данные, доказывающие связь развития ГН с «иммунной дисрегуляцией» – нарушением баланса активности хелперных клеток Th1 и Th2, продукции соответствующих им цитокинов, ассоциированных с клеточным и гуморальным механизмами адаптивного иммунного ответа [9, 10]. Однако к настоящему времени не выяснена роль циркулирующих в крови цитокинов в формировании различных клинических вариантов ГН, в том числе латентного варианта – преобладающей клинической формы заболевания с хроническим течением. В связи с приведенным целью исследования явилось изучение роли циркулирующих в крови цитокинов и факторов адаптивного иммунного ответа в патогенезе мочевого варианта ГН.

Материалы и методы

Проведено обследование 30 больных мочевым вариантом ГН, проходивших стационарное лечение в нефрологическом отделении БУ «Республиканская клиническая больница» Министерства здравоохранения (МЗ) Чувашии. Длительность заболевания – от дебюта ГН до 16 лет (в среднем $8,5 \pm 2,4$ года). Среди обследованных – 12 женщин и 18 мужчин. У 24 пациентов проведено морфологическое исследование нефробиоптата, при этом обнаружены: мезангиопролиферативная форма ГН у 14 обследованных, мембранопротролиферативная – у 4, мембранозная – у 3 и ГН с минимальными изменениями – у 3. В группу сравнения вошли 86 пациентов с ГН, у которых заболевание протекало с наличием различных клинических синдромов – нефротического (n=30), гипертонического (n=28) и сочетания нефротического и гипертонического (n=28). Для обеспечения репрезентативности результатов исследований проводили рандомизацию групп больных по длительности, морфологической характеристике заболевания, а также – по полу, возрасту, социальному статусу, наличию вредных привычек. Клиническими критериями исключения из исследования являлись: сопутствующие заболевания (сердечно-сосудистые, желудочно-кишечные, сахарный диабет, наркомания, хронический алкоголизм и др.), за исключением заболеваний верхних дыхательных путей (синуситы, тонзиллит, фарингит); вторичные ГН на фоне системных аутоиммунных заболеваний; быстро прогрессирующий ГН (экстракапиллярный ГН с образованием полулуний); ГН с признаками почечной недостаточности (сывороточный креатинин больше 200 мкг/л, скорость клубочковой фильтрации меньше 60 мл/мин); 5) беременные женщины.

Клинические исследования, изучение цитокинового профиля и иммунного статуса больных выполнены на базе БУ «Республиканская клиническая больница» МЗ Чувашии, кафедры госпитальной терапии №2 ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», Централизованной клинико-диагностической лаборатории БУ

«Городская клиническая больница № 1» МЗ Чувашии в период с 2007 по 2013 г.

Определение концентрации основных циркулирующих в крови цитокинов – IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ и рецепторного антагониста IL-1 β – Ra-IL-1 β проведено методом твердофазного иммуноферментного анализа в системе бидетерминантного определения антигена с применением пероксидазы в качестве индикаторного фермента с использованием стандартных наборов («Цитокин», С-Петербург) в соответствии с прилагаемыми к наборам методикам. Оценка иммунного статуса включала: определение сывороточных иммуноглобулинов – IgM, IgG, IgA методом радиальной иммунодиффузии в геле, иммунофенотипирование лимфоцитов методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител CD3, CD4, CD8, CD20, CD25, CD95 («Сорбент», Москва) [4]. Исследования проводили дважды – до начала стационарного лечения (1–2-е сут) и после завершения стационарного этапа лечения (12–14-е сут). Полученные данные обрабатывали с помощью статистической программы «Statistica v. 10.0». При асимметричности распределения совокупности значений показателей в группах вычисляли медиану (Me), границы варьирования изучаемой совокупности определяли в пределах от 10 до 90 перцентилей, а достоверность различий оценивали по непараметрическому критерию Манна – Уитни (p_{m-w}) для независимых группировок. Достоверность связи между двумя рядами наблюдений оценивали на основании вычисления коэффициента корреляции рангов Спирмена (r_s), достоверность коэффициентов считалась приемлемой при $r_s < 0,05$. Результаты исследования больных сравнивали с референсными значениями, полученными при исследовании 40 практически здоровых лиц.

Результаты исследования и обсуждение

У больных ГН, независимо от клинического варианта, уровни про- и противовоспалительных цитокинов превышали референсные значения (табл. 1). Исключение составлял связанный с функцией хелперных клеток типа Th2 IL-4, содержание которого в сыворотке крови у больных латентным ГН оставалось на уровнях, характерных для здоровых лиц. Повышение продукции провоспалительных цитокинов при ГН объясняется развитием воспалительных изменений в гломерулах вследствие инфильтрации лимфоцитами, моноцитами и пролиферации резидентных гломерулярных клеток. Происходящее параллельно росту уровней провоспалительных цитокинов повышение образования противовоспалительных цитокинов – IL-10 и Ra-IL-1 β – можно расценивать как ауторегуляторный ответ, направленный на подавление повышенной продукции провоспалительных цитокинов [7].

При сравнении показателей цитокинового профиля у больных исследуемых групп обнаружен ряд различий у пациентов с латентным ГН, в частности: низкие уровни

провоспалительного цитокина IL-1 β , его рецепторного антагониста и IL-4 на всем протяжении пребывания больных в стационаре при исходно высоких уровнях противовоспалительного цитокина – IL-10 и цитокина с Т-клеточно-регулирующей функцией – IFN- γ . Если у больных латентным ГН уровни продукции IL-1 β и Ra-IL-1 β повышались в равной степени, о чем свидетельствует сохранение баланса их уровней (IL-1 β /Ra-IL-1 β) в пределах референсных значений, то у больных группы сравнения рост уровня IL-1 β преобладал над степенью продукции Ra-IL-1 β , и в результате медиана IL-1 β /Ra-IL-1 β в 2,89 раза превышала аналогичный показатель группы здоровых.

Таблица 1

Цитокиновый профиль больных латентным вариантом ГН и группы сравнения

Цитокины, пг/мл		Референсные значения (здоровые) n=40	Латентный вариант ГН n=30	Группа сравнения n=86	p _{m-u}
		<u>Me</u> (P ₁₀ ; P ₉₀)	<u>Me</u> (P ₁₀ ; P ₉₀)	<u>Me</u> (P ₁₀ ; P ₉₀)	
IL-1 β	(1)	<u>1,4</u> (0,0; 7,0)	<u>12,8^{###}</u> (1,6; 244,3)	<u>21,3^{###}</u> (2,5; 353,2)	0,021
	(2)		<u>8,2^{###}</u> (1,1; 221,9)	<u>26,5^{###}</u> (5,5; 478,5)	0,001
IL-2	(1)	<u>5,3</u> (0,6; 17,9)	<u>29,6^{###}</u> (11,5; 143,5)	<u>32,9^{###}</u> (17,2,8; 84,5)	0,987
	(2)		<u>30,5^{###}</u> (15,2; 450,0)	<u>27,8^{###}</u> (16,1; 86,3)	0,292
IL-4	(1)	<u>1,4</u> (0,0; 4,8)	<u>2,3</u> (1,7; 4,9)	<u>7,1^{###}</u> (3,2; 11,2)	0,001
	(2)		<u>2,5</u> (1,7; 5,4)	<u>4,5</u> (2,0; 9,6)	0,010
IL-10	(1)	<u>0,1</u> (0,0; 0,5)	<u>5,3^{###}</u> (1,7; 10,9)	<u>3,1^{###}</u> (1,9; 10,9)	0,003
	(2)		<u>2,8</u> (1,6; 20,1)	<u>3,1</u> (2,0; 12,1)	0,898
Ra-IL-1 β	(1)	<u>75,2</u> (0,6; 149,4)	<u>449^{###}</u> (157; 1479)	<u>643^{###}</u> (206; 3915)	0,004
	(2)		<u>413^{##}</u> (19; 2942)	<u>578^{###}</u> (238; 3674)	0,035
IL-1 β /Ra-IL-1 β	(1)	<u>0,019</u> (0,002; 0,046)	<u>0,026</u> (0,010; 0,051)	<u>0,055[#]</u> (0,031; 0,084)	0,028
	(2)		<u>0,025</u> (0,012; 0,052)	<u>0,048^{##}</u> (0,023; 0,132)	0,004
IFN- γ	(1)	<u>0,019</u> (0,002; 0,046)	<u>88,2^{###}</u> (54,1; 356,8)	<u>56,1^{###}</u> (36,1; 129,3)	0,040
	(2)		<u>56,8^{###}</u> (26,7; 412,4)	<u>56,5^{###}</u> (36,1; 121,3)	0,470

Примечания: здесь и в табл. 3 – (1), (2) – значения показателей на 1–2-е сут. и 12–14-е сут. стационарного лечения соответственно; p_{m-w} – достоверность различий показателей у больных

латентным ГН относительно значений больных группы сравнения; # – $p_{m-w} < 0,05$, ## – $p_{m-w} < 0,01$, ### – $p_{m-w} < 0,001$ – достоверность различий показателей у больных относительно референсных значений.

Обнаруженное у больных мочевым вариантом ГН превышение исходного уровня IFN- γ и сниженный уровень IL-4 можно в определенной степени считать проявлением поляризации иммунного ответа в сторону преобладания активации клеточного механизма адаптивного иммунного ответа, связанного, как известно, с функцией хелперных клеток типа Th1 [Tipping P.G]. Корреляционный анализ показал, что у больных ГН первоначальные уровни цитокинов, связанных с активностью Th1-клеток – IL-2 и IFN- γ прямо коррелировали с числом CD25⁺-клеток (табл. 2). Уровень IFN- γ к тому же был отрицательно связан с конечным числом CD95⁺-клеток.

Таблица 2

Статистически значимые корреляционные связи показателей цитокинового статуса и адаптивного иммунитета у больных ГН

Цитокин		Иммунологический показатель	До лечения		После лечения	
			r _s	p	r _s	p
IL-1 β	(1)	IgG	-0,32	0,000	-0,34	0,000
	(2)	IgG			-0,34	0,001
RAIL-1 β	(1)	IgM			0,46	0,000
IL-2	(1)	CD25 ⁺ -клетки, абс.	0,30	0,043		
		IgM			0,37	0,019
	(2)	IgG			0,36	0,045
IL-4	(1)	CD20 ⁺ -клетки, абс.	0,24	0,002	0,31	0,003
IL-10	(1)	CD3 ⁺ -клетки, %	-0,32	0,000	-0,24	0,009
		CD3 ⁺ -клетки, абс.	-0,32	0,005		
		CD4 ⁺ -клетки, %	-0,42	0,000	-0,20	0,023
		CD4 ⁺ -клетки, абс.	-0,22	0,007	0,32	0,001
		CD95 ⁺ абс			- 0,31	0,008
		IgM			0,25	0,006
	IgG			0,46	0,000	
	(2)	IgM			0,32	0,002
IFN- γ	(1)	CD25 ⁺ -клетки, %	0,49	0,000		
		CD95 ⁺ -клетки, %			-0,39	0,031

Примечание: здесь и в табл. 3 – абс. – абсолютное значение ($\times 10^9$ /л).

Исходный иммунный статус больных мочевым вариантом ГН отличался от такового группы сравнения более высоким содержанием лимфоцитов и CD25⁺-клеток, экспрессирующих, как известно, маркер позитивной активации Т-клеток – рецептор для IL-2 (табл. 3). К 12–14 дням лечения в этой же группе больных число CD95⁺-клеток, несущих маркер негативной активации Т-клеток – Fas-рецептор апоптоза, становилось меньше, чем в сравниваемой группе больных. При исследовании гуморального звена адаптивного иммунитета у больных группы сравнения были выявлены признаки активации этого механизма иммунного ответа: повышение относительно референсных значений уровней двух классов иммуноглобулинов – IgM и IgA, что, по-видимому, является отражением иммунной реакции на внедрение этиологически значимых бактериальных возбудителей. Однако в общую картину установленного повышения уровня антителопродукции у больных группы сравнения не вписывается уровень IgG, который, напротив, ниже значения больных латентным ГН. Данный факт мы объясняем тем, что среди больных группы сравнения преобладают пациенты с нефротическим вариантом ГН, у которых происходит потеря данного класса иммуноглобулинов вследствие массивной неселективной протеинурии. При этом возможность потери с мочой молекул IgM и IgA, имеющих пентамерную и димерную структуру, соответственно гораздо меньше, чем у мономерного IgG. У больных латентным ГН уровни иммуноглобулинов оставались на уровнях референсных значений и были достоверно ниже аналогичных показателей группы сравнения. Основываясь на приведенных данных, можно полагать, что у больных латентным ГН более выражена активация клеточного звена адаптивного иммунного ответа на фоне снижения функциональной активности его гуморальной составляющей. Полярность изменения двух рассматриваемых компонентов иммунного ответа является следствием существования взаимоотношений между Th1 и Th2 функциями, ассоциированными с клеточным и гуморальным механизмом соответственно [3].

Таблица 3

Статистически значимые различия показателей адаптивного иммунного ответа у больных латентным вариантом ГН и группы сравнения

Иммунологический показатель, ед. измерения		Референсные значения (здоровые) n=40	Латентный вариант ГН n=30	Группа сравнения n=86	P _{m-u}
			M±SD	M±SD	
Лимфоциты, %	(1)	37,6±7,9	35,3±6,2	31,5±11,0 ^{###}	0,005
Лимфоциты, абс.	(1)	1975±545	2191±663	1963±569	0,018
IgM, г/л	(2)	1,3±0,3	1,4±0,5	1,8±0,8 ^{###}	0,003
IgG, г/л	(2)	11,7±2,3	12,1±2,6	10,9±3,3	0,026
IgA, г/л	(2)	1,9±0,6	1,9±0,7	2,3±0,8 ^{##}	0,005
CD25 ⁺ -клетки, %	(1)	7,0±2,3	5,0±1,8 ^{##}	4,5±1,3 ^{###}	0,041

CD25 ⁺ -клетки, абс.	(1)	143±76	111±57 [#]	88,5±35,0 ^{###}	0,004
CD95 ⁺ -клетки, %	(2)	19,8±3,0	13,8±5,0 ^{###}	15,8±5,9 ^{###}	0,031
CD95 ⁺ -клетки, абс.	(2)	384±97	282±125 ^{###}	337±151 ^{##}	0,024

Особенности цитокинового профиля у больных изолированным мочевым синдромом – умеренное повышение продукции провоспалительного цитокина IL-1 β , уравновешанное параллельным ростом продукции RAIL-1 β , преобладание активности Th1-клеток могут быть ответственны за бессимптомное течение ГН. Определенный вклад в поддержание бессимптомного варианта течения ГН вносит высокий уровень продукции IL-10, который, как было показано нами ранее, влияет положительно на клубочковую (азотвыделительную) функцию почек, канальцевую (концентрационную) и эритропоэтическую [2]. Положительное влияние IL-10 на почечные функции может быть объяснено его ингибирующим воздействием на продукцию провоспалительных цитокинов [6]. На экспериментальной модели хронического заболевания почек у крыс показано, что IL-10 способен снижать продукцию хемокинов, вырабатываемых локально в почках, – моноцитарного хемотаксического протеина (MCP-1) и хемотаксина, экспрессируемого и секретируемого T-клетками (RANTES), а также подавлять образование коллагена и тем самым блокировать развитие гломерулосклероза и тубулоинтерстициального фиброза [8].

Заключение

У больных ГН с исходно сниженной продукцией IL-1 β на фоне повышенного уровня образования IL-10 и сдвига баланса активности адаптивного иммунного ответа в сторону преобладания клеточного звена, связанного с активностью Th1-клеток, создаются условия для развития бессимптомного варианта ГН.

Список литературы

1. Бикбов Б.Т., Томилина Н.А. Состояние заместительной терапии больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 1998–2007 гг. (Аналитический отчет по данным Российского регистра заместительной почечной терапии) // Нефрология и диализ. – 2009. – Т. 11, № 3. – С. 146-222.
2. Карзакова Л.М., Автономова О.И., Степанова И.М. и др. Особенности цитокинового статуса при различных клинических вариантах гломерулонефрита // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Т. 60, № 6. – С. 33-36.
3. Сепиашвили Р.И. Функциональная система иммунного гомеостаза // Аллергология и иммунология. – 2003. – Т. 4, № 2. – С. 5-14.

4. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. – М.: Изд-во ВНИРО, 1995. – 219 с.
5. Eknouyan G. The early modern kidney-nephrology in and about the nineteenth century. Part 1. //Semin. Dial. – 2013. – Vol. 26, №1. – P. 73-74.
6. Fiorentino D.F., Bond M.W., Mosmann T.R. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones //J. Exp. Med. – 1989. – Vol. 170. – P. 2081-2095.
7. Mansouri L., Paulsson J.M., Moshfegh A. et al. Leukocyte Proliferation and Immune Modulator Production in Patients with Chronic Kidney Disease. //PLoS One. – 2013. – Vol. 8. – P. e73141.
8. Mu W., Ouyang X., Agarwal A. et al. IL-10 suppresses chemokines, inflammation, and fibrosis in a model of chronic renal disease //J. Am. Soc. Nephrol. – 2005. – Vol. 16. – № 1-2. – P. 3651-3660.
9. Tipping P.G., Kitching A.R. Glomerulonephritis, Th1 and Th2: what's new? //Clin. Exp. Immunol. – 2005. – Vol. 142, № 2. – P. 207-215.
10. Uwaezuoke S.N. Steroid-sensitive nephrotic syndrome in children: triggers of relapse and evolving hypotheses on pathogenesis // Ital. J. Pediatr. – 2015. – Vol. 41. – P. 19. doi: 10.1186/s13052-015-0123-9.