

УДК 616.16-002.151-053.2-037-07:616.15-078:57.083.3

Яворович М.В.

ОЦІНКА ІНФОРМАТИВНОСТІ ПОКАЗНИКІВ MCP-1 ТА S-НІТРОЗОТІОЛУ В ЯКОСТІ ДІАГНОСТИЧНО-ПРОГНОСТИЧНИХ КРИТЕРІЇВ ПЕРЕБІГУ ГЕМОРАГІЧНОГО ВАСКУЛІТУ У ДІТЕЙ

Харківський національний медичний університет

В Україні, як і в цілому світі, існує проблема підвищеної захворюваності та інвалідизації дитячого населення. Та саме геморагічний васкуліт може стати цьому причиною внаслідок розвитку хронічної ниркової недостатності. Метою дослідження стало вивчення рівнів MCP-1 та S-нітрозотіолу у дітей з геморагічним васкулітом в залежності від ступеня важкості. Обстежено 39 дітей віком від 4 до 17 років з діагнозом геморагічний васкуліт. Встановлено, що рівень MCP-1 в залежності від ступеня активності процесу зростає. Показники S-нітрозотіолу у дітей з легким та середньоважким перебігом захворювання перевищували результати у дітей контрольної групи, а у дітей з важким перебігом навпаки знижувались в порівнянні з дітьми групи контролю. Таким чином, неможливо виключити вплив прозапальних хемокінів на важкість ушкодження ендотелію судин та розвитку його дисфункції.

Ключові слова: геморагічний васкуліт, діти, хемокіни, метаболіти оксиду азоту, патогенез.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами: №0114U003393 Медико-біологічна адаптація дітей із соматичною патологією в сучасних умовах

Вступ

За даними багатьох авторів перше місце серед системних васкулітів займає саме геморагічний васкуліт (ГВ), його розповсюдженість сягає 2-2,5 випадки на 10000 дитячого населення [1]. Як відомо, в Україні, як і в цілому світі, існує проблема підвищеної захворюваності та інвалідизації дитячого населення, а згідно літературних даних майже у 40% дітей з геморагічним васкулітом розвивається нефрит на 4-6 тижні від маніфестації захворювання, який може спричинити розвиток хронічної ниркової недостатності [2]. Саме тому це захворювання представляє досить серйозну медико-соціальну проблему, потребує поєднання медичних, фінансових та соціальних зусиль.

Незважаючи на те, що на думку дослідників типовою гістопатологічною особливістю ГВ є периваскулярне скупчення нейтрофілів в ділянках ураження, так званий лейкоцитокластичний васкуліт, механізми, що лежать в основі лейкоцитарної інфільтрації і пошкодження ендотелію судин до кінця не зрозумілі, а також фактори, визначають тяжкість перебігу захворювання, залишаються маловивчені [3]. Попередні дослідження вказували на підвищення рівнів медіаторів запалення в сироватці крові, в тому числі фактору некрозу пухлини (TNF- α), інтерлейкіну-6, трансформуючого фактору росту (TGF- β) і фактору росту ендотелію судин (VEGF). Цитокіни хемотаксису (лейкоцитарні хемоаттрактанти/активуючі фактори) так само відомі як хемокіни, являють собою групу запальних/імунomodуючих поліпептидних факторів, які вивільняються різними клітинами, такими як макрофаги, моноцити, еозинофіли, нейтрофіли, фібробласти, ендотеліальні клітини судин, глад-

ком'язові клітини і тучні клітини в ділянках запалення, що є важливим патогенним фактором ушкодження тканин при розвитку ГВ. Моноцитарний хемоаттрактантний протеїн-1 (MCP-1, так само відомий як MCAF (скорочення від фактора активації і хемотаксису макрофагів)) являє собою CC-хемокін, що продукується моноцитами / макрофагами, гладком'язовими клітинами, фібробластами і клітинами ендотелію судин і викликає міграцію клітин і адгезію клітин моноцитів, Т-лімфоцитів і клітин-природних кілерів, а також опосередковують вивільнення гістаміну базофілами [4]. Останнім часом все більше уваги приділяється ролі ендотеліальної дисфункції в розвитку органної патології, що призводить до гемодинамічних порушень в нирці [5]. Не менш важливим є той факт, що найбільш важливу роль у реалізації нефротоксичної дії протеїну грають моноцитарний хемотаксичний білок, фактор регуляції експресії і секреції нормальних Т-лімфоцитів, а також трансформуючий фактор росту. Моноцитарний хемотаксичний білок, що синтезується каналцевим епітелієм під впливом протеїнуриї, дифундує в інтерстицій нирки і забезпечує накопичення в ньому моноцитів \ макрофагів і лімфоцитів з формуванням запального інфільтрату, потім MCP-1 стимулює продукцію клітинами інфільтрату медіаторів, що сприяють прогресуванню запалення і розвитку фіброзу в інтерстиціальної тканини нирки [6]. Роль хемокінів була досліджена при багатьох ревматичних захворюваннях, таких як хвороба Кавасакі, хвороба Бехчета та ін., проте роль профіброгенних медіаторів при ГВ у дітей недостатньо вивчена.

NO є одним з найбільш потужних вазодилаторів. Проникаючи в ендотеліальні клітини і

судини гладких м'язів, NO активує циклічний 3', 5'-гуанозинмонофосфат, знижує вміст внутрішньоклітинного кальцію, опосередковує ефекти інших вазодилаторів (брадикініну, ацетилхоліну, гістаміну та ін.). Пригнічує синтез ендотеліну-1, обмежує вивільнення норадреналіну. Крім ефекту вазодилатації, NO гальмує проліферативні процеси в серці та судинах, надає коригуючий вплив на апоптоз, могутню протизапальну і антитромбогену дію, гальмує агрегацію і адгезію тромбоцитів, має антиоксидантні властивості [7]. Тому вивчення метаболітів оксиду азоту при ГВ має важливу діагностичну цінність.

Мета дослідження

Визначення рівнів MCP-1 та S-нітрозотіолу в якості діагностично-прогностичних критеріїв перебігу геморагічного васкуліту у дітей.

Матеріали та методи дослідження

Нами обстежено 39 дітей віком від 4 до 17 років з діагнозом геморагічний васкуліт, які перебували на лікуванні в КЗОЗ «Харківська міська клінічна дитяча лікарня №16». Були виділені 3 основні групи дітей з ГВ: 1 група - пацієнти з легким перебігом захворювання (n = 12), 2 група - діти із середньотяжким перебігом ГВ (n = 15) і 3 група - з важким перебігом (n = 12). Діагноз захворювання верифікували та встановлювали за допомогою загальноприйнятих клініко-лабораторних та інструментальних показників згідно з протоколом МОЗ України №676 від 12.10.2006 року «Клінічний протокол надання медичної допомоги хворим із васкулітом Шенлейн-Геноха (геморагічний васкуліт, пурпура Шенлейн-Геноха) (ВШГ)». Контрольну групу склали 17 практично здорових дітей. Відповідно до класифікації ГВ проводився розподіл за формами захворювання: шкірна, шкірно-суглобова та шкірно-суглобова з абдомінальним і нирковим синдромами (змішана). Ступінь активності патологічного процесу і тяжкість перебігу захворювання оцінювалися за такими параметрами як клінічні прояви та дані лабораторних методів дослідження, а саме рівень лейкоцитів у периферичній крові, ШОЕ, показники гострої фази запалення (серомукоїд, глікопротеїди), гамма-глобуліни, рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) та фактор Вілебранда. Для досягнення мети нашого дослідження всім дітям основної та контрольної груп проводилося кількісне визначення MCP-1 твердофазним імуноферментним методом ELISA за допомогою набору Bender Medsystems (Австрія) MCP-1 та визначення рівня S-нітрозотіолу флуорометричним методом.

Статистична обробка отриманих нами результатів була проведена в пакеті StatSoft STATISTICA Version 8. Для вибірок з розподілом, які не відповідають закону Гаусса, визначали

медіану (Me) і інтерквартильний розмах (Lq - нижній квартиль; Uq - верхній квартиль). При порівнянні показників, які характеризувалися порівнянням більш 2 точок, використовували Н критерій дисперсійного аналізу Краскла-Уолліса (KW). Рівень значимості визначали з урахуванням поправки Бонферроні. Для оцінки статистичної значущості відмінностей між двома незалежними групами використовували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні (MW). Оцінку зв'язку між рядами показників проводили за допомогою методів рангової кореляції Спірмана (r). Результати вважалися статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати дослідження ті їх обговорення

Серед обстежених дітей було 24 хлопчики, що склали 61,53% від загальної кількості обстежених хворих та 16 дівчаток – 38,47% ($p=0,016$). Всі обстежені діти були розподілені на наступні вікові групи у відповідності до рекомендацій В.Г.Майданика, (2007): від 4 до 7 років – 24 (61,53%), від 8 до 12 років – 8 (20,51%), від 13 до 18 років – 7 (17,96%), при $p=0,016$, що свідчить про суттєве «омолодження» ГВ. У 21 дитини з ГВ (53,84%) встановлена шкірно-суглобова форма, у 8 (20,51%) обстежуваних дітей - шкірно-суглобова з абдомінальним синдромом, у 6 (15,38%) дітей основної групи встановили шкірну форму захворювання і у 4 (10,25%) дітей з ГВ - шкірно-суглобова з абдомінальним і нирковим синдромами. При цьому у п'яти з шістьох дітей зі шкірною формою захворювання встановлений рецидивуючий перебіг захворювання. Також слід відмітити, що майже у 70% обстежених хворих діагностований середньоважкий та важкий перебіг ГВ, що теж відображає особливості сучасного перебігу даного захворювання у дітей. В анамнезі у 87% ($p=0,013$) пацієнтів зафіксовані перенесені раніше захворювання органів дихання та ЛОР-органів більше 2 разів на рік (бронхіт, пневмонія, отит, ангіна, хронічний декомпенсований тонзиліт). 97% ($p=0,000$) хворих перенесли дитячі інфекційні захворювання, у 85% ($p=0,02$) дітей, хворих на ГВ, мали місце алергічні реакції (харчова, медикаментозна, побутова алергія).

Представлені в табл. 1 показники відображають важкість перебігу ГВ. Аналізуючи відмінності між поділеними групами виявлені наступні статистично значущі дані: лейкоцити (MW U Test: $p_{1-2}=0,010$, $p_{1-3}=0,000$, $p_{2-3}=0,241$), ШОЕ (MW U Test: $p_{1-2}=0,000$, $p_{1-3}=0,000$, $p_{2-3}=0,005$), серомукоїд (MW U Test: $p_{1-2}=0,000$, $p_{1-3}=0,366$, $p_{2-3}=0,000$), ЦІК (MW U Test: $p_{1-2}=0,000$, $p_{1-3}=0,000$, $p_{2-3}=0,000$), фактор Вілебранда ($p_{1-2}=0,000$, $p_{1-3}=0,000$, $p_{2-3}=0,000$). За такими показниками, як глікопротеїди та γ -глобуліни статистично значущих відмінностей виявлено не було.

Таблиця 1
Показники важкості перебігу геморагічного васкуліту (Me (Lq; Uq))

Показник	Легкий перебіг ГВ	Середньоважкий перебіг ГВ	Важкий перебіг ГВ
Лейкоцити, *10 ⁹ /л	5,85(5,10;6,90)	8,2(6,0;10,2)	9,1(7,2;12,3)
ШОЕ, мм/ч	12(11;15)	20(18;20)	22(19;25)
Серомукоїд, од.	5,1(4,3;6,3)	5,3(4,5;7,8)	9,7(7,6;10,4)
Глікопротеїди, од.	0,439(0,343;0,494)	0,533(0,320;0,570)	0,533(0,417;0,601)
ЦІК, у.о.	67(61;75)	87(78;97)	123(112;157)
γ-глобуліни, %	18,7(17,3;19,8)	21,4(19,0;24,1)	20,5(17,0;22,7)
Фактор Вілебранда, %	138,6(132,5;144,5)	169,5(159,0;175,5)	194,4(188,4;196,7)

Таблиця 2
Статистичні характеристики показників МСР-1 та S-нітрозотіолу у дітей з геморагічним васкулітом

Показник	Статистичні показники	1 гр.	2 гр.	3 гр.	Контроль	KW
МСР-1, нг/мл	Me	875,5	1280,6	2310,4	370,6	H =50,99, p=0,0000
	Lq	780,6	1050,6	2020,4	350,3	
	Uq	940,4	1390,4	2690,7	400,0	
S-нітрозотіол, ммоль/л	Me	0,64	0,54	0,13	0,33	H =44,42, p=0,0000
	Lq	0,58	0,48	0,08	0,28	
	Uq	0,71	0,66	0,21	0,36	

Після проведеного аналізу статистичних характеристик показників МСР-1 встановлено, що рівень МСР-1 в залежності від ступеня активності процесу у пацієнтів 1 групи склав 875,5(780,6;940,4) нг/мл, 2 групи – 1280,6(1050,6;1390,4) нг/мл і 3 групи – 2310,4(2020,4;2690,7) нг/мл, що статистично достовірно вище в порівнянні з дітьми групи контролю (KWH =50,99, p=0,0000; MW U Test: p₁₋₂=0,000, p₁₋₃=0,000, p₂₋₃=0,000, p_{c-1}=0,000, p_{c-2}=0,000, p_{c-3}=0,000).

Статистична обробка результатів рівня S-нітрозотіолу, як метаболіту оксиду азоту, дала наступні результати: у дітей 1 та 2 груп медіана склала 0,64(0,58;0,71) та 0,54(0,48;0,66) ммоль/л відповідно, що перевищує результати, які встановлені у дітей контрольної групи. Та навпаки, у дітей 3 групи медіана склала 0,13(0,08;0,21) ммоль/л, що значно нижче в порівнянні з дітьми групи контролю (таб.2). Міжгруповий аналіз показав статистично достовірну різницю між трьома основними групами та групою контролю (KWH =44,42, p=0,0000; MW U Test: p₁₋₂=0,092, p₁₋₃=0,000, p₂₋₃=0,000, p_{c-1}=0,000, p_{c-2}=0,000, p_{c-3}=0,000).

У хворих 1 групи виявлені достовірні позитивні кореляційні зв'язки між рівнями ЦІК, ШОЕ, гамма-глобулінів і показниками S-нітрозотіолу (r = + 0,72, r = + 0,38, r = + 0,35 відповідно при p <0,05) між рівнями ШОЕ, ЦІК, глікопротеїдами, фактором Вілебранда та МСР-1 (r = + 0,55, r = + 0,34, r = + 0,44, r = + 0,34 відповідно при p <0,05). У хворих 2 групи виявлена позитивна кореляція рівнів серомукоїдів і показників S-нітрозотіолу (r = + 0,35, при p <0,05), між рівнями ШОЕ, фактором Вілебранда та МСР-1 (r = + 0,52, r = + 0,52, відповідно при p <0,05). У дітей 3 групи виявлена пряма кореляція між рівнями ШОЕ, глікопротеїдів, ЦІК і показниками МСР-1 (r = + 0,58, r = + 0,68, r = + 0,42, відповідно, при p <0,05), а також визначається зворотній кореляційний зв'язок між рівнями ШОЕ, серомукоїдів, МСР-1 і показниками S-нітрозотіолу (r = - 0,36, r = - 0,30, r = - 0,47 відповідно при p <0,05).

Висновки

Підвищення рівнів МСР-1 у всіх дітей хворих на геморагічний васкуліт, в порівнянні з дітьми групи контролю свідчить про безпосередню участь цього хемокіну в патогенезі ГВ, а саме посилення міграції лейкоцитів та формування периваскулярних інфільтратів з подальшим ураженням судинної стінки. Зростання рівня МСР-1 в залежності від ступеня важкості може вказувати на ступінь ураження судинного ендотелію в залежності від активності патологічного процесу. Зниження показників S-нітрозотіолу у дітей з важким перебігом ГВ свідчить про виснаження регуляторних властивостей організму в цілому. А наявність зворотної кореляції між показниками МСР-1 та S-нітрозотіолу може свідчити про вплив прозапальних хемокінів на важкість ушкодження ендотелію судин та розвитку його дисфункції.

Перспективи подальших розробок

В рамках нашого дослідження планується розробити алгоритм прогнозу та діагностичної значимості визначення МСР-1 та S-нітрозотіолу в сироватці крові, вимірювання товщини комплексу інтима-медіа та ендотеліозалежної дилатації плечової артерії для моніторингу перебігу геморагічного васкуліту.

Література

1. Кувшинников В.А. Геморрагический васкулит у детей : учеб.-метод. пособие / В.А. Кувшинников, С.Г. Шенец. – Минск : БГМУ, 2014. – 31 с.
2. Keith K. Pathogenesis of Henoch-Schönlein purpura nephritis / K. Keith, J. Novak, R.J. Wyatt // *Pediatr Nephrol.* – 2010. – V.25. – P.19–26.
3. Pan Y.X. Relationship between immune parameters and organ involvement in children with Henoch-Schönlein purpura / Pan Y.X., Ye Q., Shao W.X., Shang S.Q., Mao J.H., Zhang T., et al. // *PLoS One* - 2014. - №9. - P.115-261.
4. Пат. 2369604 Российская Федерация, МПК C07D401/04, A61K31/435, A61P31/12, A61P37/00. Производные пиперазинил-пиперидина в качестве антагонистов хемокинового рецептора / СЮЭ Чу-Бяо, ЦАО Ганьфэн, ХУАН Тайшэн, ЧЭНЬ Лихуа, ЧЖАН Кэ, ВАН Аньлай, МЕЛОНИ Дэвид, АНАНД Раджан, ГЛЕНН Джозеф, МЕТКАФ Брайан; патентообладатель ИНСАЙТ КОРПОРЕЙШН. – № 2006139946/04 ; заявл. 2008.05.20, опубл. 2009.10.10
5. Ибрагимова О.Ю. Эндотелиальная дисфункция у больных сахарным диабетом 2 типа и ишемической болезнью сердца / О.Ю.

Ибрагимова, Н.Х. Хафизов, Т.В. Моругова // Сибирский медицинский журнал. — 2007. — Т.72, №5. — С.40-44.

6. Нефрология: национальное руководство / Под ред. Н.А.Мухина. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. — 720с.
7. Кравчун П.Г. Значение определения нитритов-нитратов как маркеров дисфункции эндотелия при сердечно-сосудистой патологии / П.Г. Кравчун, Л.А. Лапшина, А. Ю. Титова, О.В. Глебова // Укр. медичний часопис. — 2009. — №6(74) — С.49-53
8. Hsin-Hui Yu Chemokine MCP1/CCL2 and RANTES/CCL5 gene polymorphisms influence Henoch-Schönlein purpura susceptibility and severity / Pi-Hua Liu, Yao-Hsu Yang, Jyh-Hong Lee [et al.] // The Journal of the Formosan Medical Association. — 2015. — V.114. — P.347-352

References

1. Kuvshinnikov V.A. Gemorragicheskiy vaskulit u detej : ucheb.-metod. posobie / V.A. Kuvshinnikov, S.G. Shenec. — Minsk : BGMU, 2014. — 31 s.
2. Keith K. Pathogenesis of Henoch-Schönlein purpura nephritis / K. Keith, J. Novak, R.J. Wyatt // *Pediatr Nephrol.* — 2010. — V.25. — P.19-26.
3. Pan Y.X. Relationship between immune parameters and organ involvement in children with Henoch-Schönlein purpura / Pan Y.X.,

Ye Q., Shao W.X., Shang S.Q., Mao J.H., Zhang T., et al. // *PLoS One* - 2014. - №9. - e115261

4. Pat. 2369604 Rossijskaja Federacija, MPK C07D401/04, A61K31/435, A61P31/12, A61P37/00. Proizvodnye piperazinilpiperidina v kachestve antagonistov hemokinovogo receptora / SJuJe Chu-Bjao, CAO Gan'fjen, HUAN Tajshjen, ChJeN" Lihua, ChZhan Kje, VAN An'laj, MELONI Djevid, ANAND Radzhan, GLENN Dzhozef, METKAF Brajan; patentoobladatel' INSAJT KORPOREJShN. — № 2006139946/04 ; zjavl. 2008.05.20, opubl. 2009.10.10
5. Ibragimova O.Ju. Jendotelial'naja disfunkcija u bol'nyh saharnym diabetom 2 tipa i ishemicheskoj bolezni'ju serdca / O.Ju. Ibragimova, N.H. Hafizov, T.V. Morugova // *Sibirskij medicinskij zhurnal.* — 2007. — Т.72, №5. — С.40-44.
6. *Нефрология: национальное руководство* / Под ред. Н.А.Мухина. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. — 720с.
7. Kravchun P.G. Znachenie opredelenija nitritov-nitratov kak markerov disfunkcii jendotelija pri serdechno-sosudistoj patologii / P.G. Kravchun, L.A. Lapshina, A. Ju. Titova, O.V. Glebova // *Ukr. medichnij chasopis.* — 2009. — №6(74) — С.49-53
8. Hsin-Hui Yu Chemokine MCP1/CCL2 and RANTES/CCL5 gene polymorphisms influence Henoch-Schönlein purpura susceptibility and severity / Pi-Hua Liu, Yao-Hsu Yang, Jyh-Hong Lee [et al.] // *The Journal of the Formosan Medical Association.* — 2015. — V.114. — P.347-352

Реферат

ОЦЕНКА ИНФОРМАТИВНОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ MCP-1 И S-НИТРОЗОТИОЛА В КАЧЕСТВЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИ-ПРОГНОСТИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ ТЕЧЕНИЯ ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ВАСКУЛИТА У ДЕТЕЙ

Яворович М.В.

Ключевые слова: геморрагический васкулит, дети, хемокины, метаболиты оксида азота, патогенез.

В Украине, как и во всем мире, существует проблема повышенной заболеваемости и инвалидизации детского населения. Однако, именно геморрагический васкулит может стать этому причиной, вследствие развития хронической почечной недостаточности. Целью исследования стало изучение уровней MCP-1 и S-нитрозотиола у детей с геморрагическим васкулитом в зависимости от степени тяжести. Обследовано 39 детей в возрасте от 4 до 17 лет с диагнозом геморрагический васкулит. Установлено, что уровень MCP-1 в зависимости от степени активности процесса повышался. Показатели S-нитрозотиола у детей с легким и среднетяжелым течением заболевания превышали результаты детей контрольной группы, а у детей с тяжелым течением наоборот снижались по сравнению с детьми группы контроля. Таким образом нельзя исключить влияние провоспалительных хемокинов на тяжесть повреждения эндотелия сосудов и развития его дисфункции.

Summary

EVALUATION OF INFORMATIVE VALUE OF MCP-1 AND S-NITROSOTHIOLS INDICATORS AS DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC CRITERIA OF HEMORRHAGIC VASCULITIS IN CHILDREN

Yavorovich M. V.

Key words: hemorrhagic vasculitis, children, chemokines, nitric oxide metabolites, pathogenesis.

In Ukraine, as well as throughout the world, there is a problem of increased morbidity and disability among the children. However, it is a hemorrhagic vasculitis which may result in such consequences due to the development of chronic renal failure. The aim of the study was to investigate the levels of MCP-1 and S-nitrosothiols in children with hemorrhagic vasculitis depending on its severity. The study involved 39 children aged 4 to 17 years with a diagnosis of hemorrhagic vasculitis. The level of MCP-1 was established to increase depending on the activity of the morbid process. Indicators of S-nitrosothiols in the children with mild and moderate course of the disease exceeded the results of the control group, and the children with severe clinical course conversely decreased when compared with the children of the control group. Thus we can not exclude the influence of pro-inflammatory chemokines on the severity of the vascular endothelium damage and the development of its dysfunction.