

УДК 616.61-008.6:616.611-002]-036.12-078.73-053.2

ОСОБЛИВОСТІ ЦИТОКІНОВОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ ЗАЛЕЖНО ВІД ФОРМИ ТА ПЕРЕБІГУ ХРОНІЧНОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТУ З НЕФРОТИЧНИМ СИНДРОМОМ

МАЛАШЕВСЬКА Н. М.¹, ДРІЯНСЬКА В. Є.¹, ДРАННІК Г. М.², ВЕЛИЧКО М. Б.¹, САВЧЕНКО В. С.², НЕПОМНЯЩИЙ В. М.¹, ЛІКСУНОВА Л. О.¹

ДУ «Інститут нефрології НАМН України»¹;
ДУ «Інститут урології НАМН України», Київ, Україна²

Важливою проблемою сучасної медицини є збільшення числа хворих з хронічною хворобою нирок (ХХН) протягом останніх років на 5-6% у загальній структурі захворюваності, великий відсоток пацієнтів з хронічним гломерулонефритом, нефротичним синдромом (ХГН, НС) складають молоді працездатні особи [4, 6, 7, 16].

Зусилля клініцистів на даному етапі розвитку науки спрямовані на покращення результативності лікування ХГН, гальмування темпів прогресування та мінімізації частоти розвитку хронічної ниркової недостатності (ХНН) [8-10, 12, 13].

У теорії імунного запалення, що є основою розвитку та прогресування ХГН, визначне місце відводиться ролі цитокінів та ростових факторів, які є обов'язковими чинниками здійснення ендогенної регуляції всіх ланок імунітету, гемопоезу, запалення і міжклітинної взаємодії [1-3, 5, 15, 20].

Імунне запалення являє собою первинну ланку у розвитку тубуло-інтерстиційних змін, що знаменують подальший фіброз та склероз ниркової тканини. Процес фіброзування є морфологічною основою розвитку ниркової недостатності. Виходячи з цього, прогресування ХГН є наслідком неспинного імунного запалення, що врешті спричиняє фіброзування ниркової тканини та розвиток незворотніх змін в нирці. Це обумовлено перерозподілом, або порушенням співвідношення про- та протизапальних цитокінів. Одними з основних прозапальних цитокінів є фактор некрозу пухлин- α (ФНП- α), головними продуцентами якого є клітини моноцитарно-макрофагального ряду, та інтерферон- γ (ІФ- γ), що продукується, головним чином, Т-хелперами 1 типу [11]. Протизапальними цитокінами є лімфокіни, що секретуються Т-хелперами 2 типу та Т-регуляторними лімфоцитами – інтерлейкіни-4, -10 (ІЛ-4, ІЛ-10) та трансформуючий фактор росту- β (ТФР- β) [18, 21]. Відомо, що одночасно з протизапальним ефектом, ТФР- β виявляє виражену просклеротичну дію за рахунок стимуляції фібробластів. Експериментальні дані вказують і на те, що на деяких етапах розвитку хронічної ниркової недостатності високий рівень ТФР- β корелює з розвитком фіброзу нирки [14].

Останнім часом увага приділяється судинному ендотеліальному фактору росту (СЕФР), який в нормі експресується подоцитами і є ангіогенним фактором, який індукує проліферацію клітин ендотелію і судинне проникнення, а останні дослідження не виключають, що цей фактор може сприяти міграції макрофагів [17, 19].

Тому оцінка показників вищевказаних цитокінів є важливим кроком на шляху до визначення критеріїв ризику та розробки методів впливу на них для гальмування прогресування ХГН.

Мета роботи - визначити особливості рівня цитокінів крові у хворих на ХГН, НС залежно від його клініко-морфологічної форми та перебігу для встановлення критеріїв прогнозування відповіді на терапію.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Під спостереженням були 95 хворих на хронічний гломерулонефрит з нефротичним синдромом, клінічний діагноз яким встановлений на основі анамнезу, даних об'єктивного обстеження, даних лабораторних і інструментальних досліджень, а морфологічний - з використанням тонкоігольної аспіраційної біопсії нирок.

Всім хворим з НС та морфологічно встановленим типом гломерулонефриту була призначена імунотропна терапія згідно Протоколів лікування хворих на ХГН, НС. Преднізолон призначали у дозі 1 мг/кг/добу протягом 4 тижнів, надалі дозу преднізолону поступово зменшували до 0,5 мг/кг/добу, а за наявності гормонорезистентності повністю відміняли, чи зменшували дозу і поєднували з цитостатиками. Застосовували пульс-терапію циклофосфаном (ЦФ) з розрахунку 0,75 г/м² площі тіла 1 раз на місяць протягом 6 місяців. Пацієнтам, що були резистентними до терапії циклофосфаном, або тим, у кого виникли ускладнення даної терапії, застосовували селл-септ чи сандимун.

У 43 хворих діагностовано проліферативні (1 гр), а у 52 – непроліферативні (2 гр) форми ГН. За наслідками лікування пацієнтів розподілено на групи: I група з повною або частковою клініко-лабораторною ремісією (П/ЧКЛР - 52 хворих) - зникнення набряків, зниження рівня

протеїнурії < 3,5 г/добу, нормалізація або незначні зміни протеїнограми; II група з відсутністю ефекту та прогресуванням ГН, тобто, торпідним перебігом (ТП - 43 хворих) – рівень протеїнурії ≥ 3,5 г/добу, гіпопротеїнемія, зниження функції нирок. Результати оцінювали через 1,5 міс. від її початку.

Рівень цитокінів (ФНП-α, γ-ІФ, ІЛ-1, -4, -10, ТФР-β, СЕФР) в сироватці крові визначали за допомогою імуноферментного аналізу, використовували тест-системи «Вектор Бест» (РФ), «Diaclone» (Франція) і DRG (США). Тестування проводили на аналізаторі Stat Fax 303 Plus.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Проведений аналіз цитокинової ланки імунітету залежно від форми ГН (проліферативний і непроліферативний) та стану імунітету до лікування в групах хворих, які досягли після проведення терапії П/ЧКЛР (1 група) та мали ТП хвороби (2 група).

Дослідження показали, що рівні як про-, так і протизапальних цитокінів достовірно відрізнялись від норми в обох групах, що поділені залежно від форми ГН (за винятком ІЛ-1 у хворих на непроліферативні ГН); між собою групи відрізнялись за рівнем прозапальних монокінів ІЛ-1 та ФНП-α, які були достовірно вище у пацієнтів з проліферативними ГН (табл. 1).

Таблиця 1

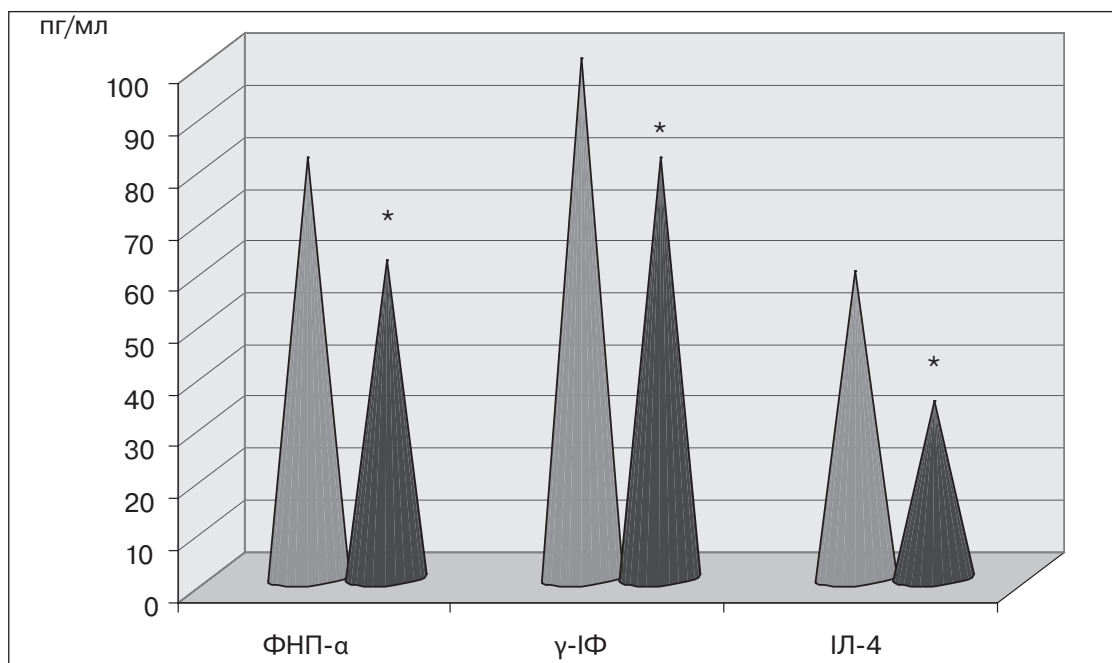
Рівень цитокінів в сироватці крові хворих на проліферативні (1) та непроліферативні (2) ХГН, НС до лікування

Показ-ник (пг/мл)	Норма (20)	Група 1 (42)	Група 2 (53)	Р 2-1	Р 3-1	Р 2-3
	1	2	3	5	5	5
ІЛ-1	48,9±4,0	73,3±3,5	58,1±3,4	p<0,05	p>0,05	P=0,033*
ФНП-α	24,1±2,2	81,5±6,6	51,9±4,2	p<0,001	p<0,001	P=0,002*
γ-ІФ	20,2±2,2	100,5±5,2	110,5±6,6	p<0,05	p<0,05	p=0,465
ІЛ 10	23,4±2,2	85,1±7,0	85,9±11,1	p<0,05	p<0,05	p=0,722
ІЛ 4	16,1±0,4	59,0±4,4	56,8±5,3	p<0,05	p<0,05	p=0,796
СЕФР	95,7±4,4	263±39	293±37	p<0,001	p<0,001	P=0,787

* - різниця достовірна

Аналіз коефіцієнтів кореляції (Спірмена або Кендала) виявив пряму кореляцію між рівнями γ-ІФ та ТФР-β (κ=0,678) у хворих з проліферативними ГН, і γ-ІФ та ІЛ-10 (0,674) - з непроліферативними.

У хворих на проліферативні ГН (I гр) лікування призводило до достовірного зниження рівнів ФНП, γ-ІФ, ІЛ-4 (рис. 2) та співвідношення ІФ/ІЛ-10 від 1,37±0,19 до 0,97±0,09 (p=0,022).



* - різниця достовірна

Рис. 2. Рівень цитокінів крові у хворих на проліферативні ГН до та після курсу терапії.

У хворих з непроліферативними формами ГН (II гр.) після терапії достовірно знижувався тільки рівень γ -ІФ від $110,6 \pm 6,6$ до $91,1 \pm 5,7$ пг/мл ($p=0,001$).

Аналіз особливостей рівня цитокінів залежно від перебігу захворювання показав, що паці-

єнти в кожній групі окремо мали показники, що відрізнялись від норми так само, як і загальна група всіх хворих на ГН, хворі II групи (з торпідним перебігом хвороби) до лікування характеризувались більш високим рівнем ІЛ-10 в крові (табл. 2).

Таблиця 2

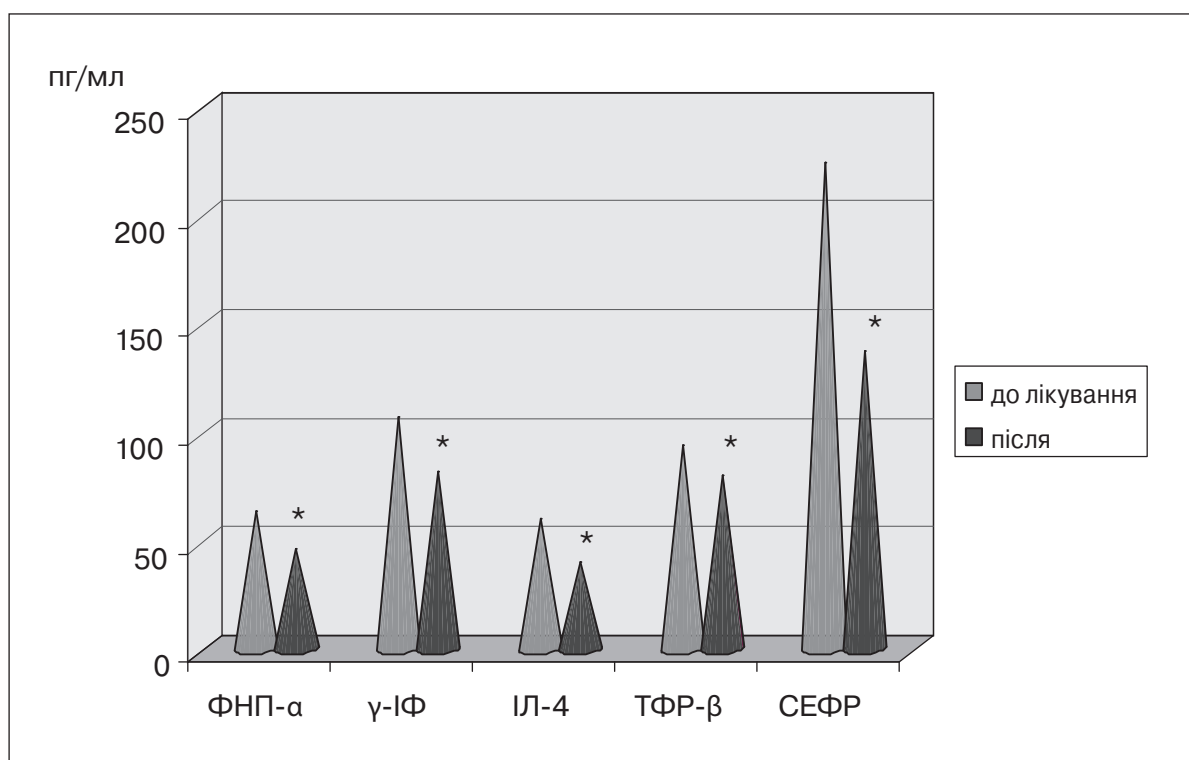
Рівень цитокінів до лікування в сироватці крові хворих на ХГН, НС, що мали після терапії П/ЧКЛР (група I) або ТП (група II)

Показник (пг/мл)	Норма (20)	Група I (52)	Група II (43)	P 2-1, 3-1	P 2-3
	1	2	3	5	5
ІЛ-1	$48,9 \pm 4,0$	$64,6 \pm 5,5$	$59,2 \pm 4,8$	$p > 0,05$	$p = 0,437$
ФНП- α	$24,1 \pm 2,2$	$68,2 \pm 6,1$	$54,9 \pm 5,9$	$p < 0,001$	$p = 0,082$
γ -ІФ	$20,2 \pm 2,2$	$107,5 \pm 6,1$	$103,3 \pm 5,6$	$p < 0,001$	$p = 0,635$
ІЛ 10	$23,4 \pm 2,2$	$69,8 \pm 6,1$	$94,5 \pm 6,2$	$p < 0,001$	$p = 0,048^*$
ІЛ 4	$16,1 \pm 0,4$	$60,8 \pm 4,4$	$56,3 \pm 5,4$	$p < 0,001$	$p = 0,522$
ТФР- β	$56,6 \pm 4,3$	$94,9 \pm 4,9$	$100,1 \pm 5,6$	$p < 0,001$	$p = 0,533$
СЕФР	$95,7 \pm 4,7$	$224,4 \pm 22$	$334,9 \pm 51,2$	$p < 0,001$	$P = 0,169$

* - різниця достовірна

Таким чином, не виявлено чітких достовірних маркерів рівня цитокінів до лікування, за якими можна було б прогнозувати подальший перебіг ГН, крім високого рівня ІЛ-10 (більше 80-90 пг/мл), більш характерного для хворих з торпідним перебігом хвороби.

Проведений аналіз змін рівнів цитокінів до та після лікування у хворих залежно від перебігу ГН. В групі I відмічено позитивні зміни всіх показників в динаміці терапії (рис. 3), за винятком ІЛ-1 ($p=0,345$) та ІЛ-10 ($p=0,077$), тоді як в II гр. (ТП) достовірно знижувався тільки середній рівень γ -ІФ від $103,38 \pm 5,60$ до $90,6 \pm 2,7$ пг/мл ($p=0,002$).



* - різниця достовірна ($p < 0,05$)

Рис. 3. Динаміка середніх рівнів цитокінів після проведеного лікування у хворих з П/ЧКЛР.

Виявлено достовірне зниження коефіцієнту співвідношення рівнів про- (γ -ІФ) та протизапального (ІЛ-10) цитокінів як балансу активності

T-x 1 та T-регуляторних лімфоцитів у хворих з П/ЧКЛР після лікування (рис. 4).

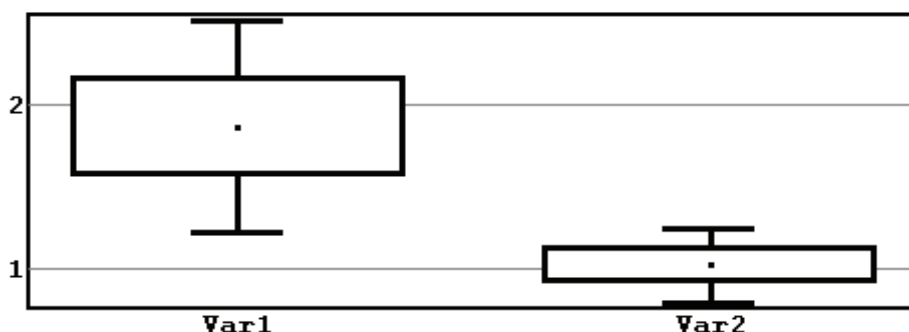
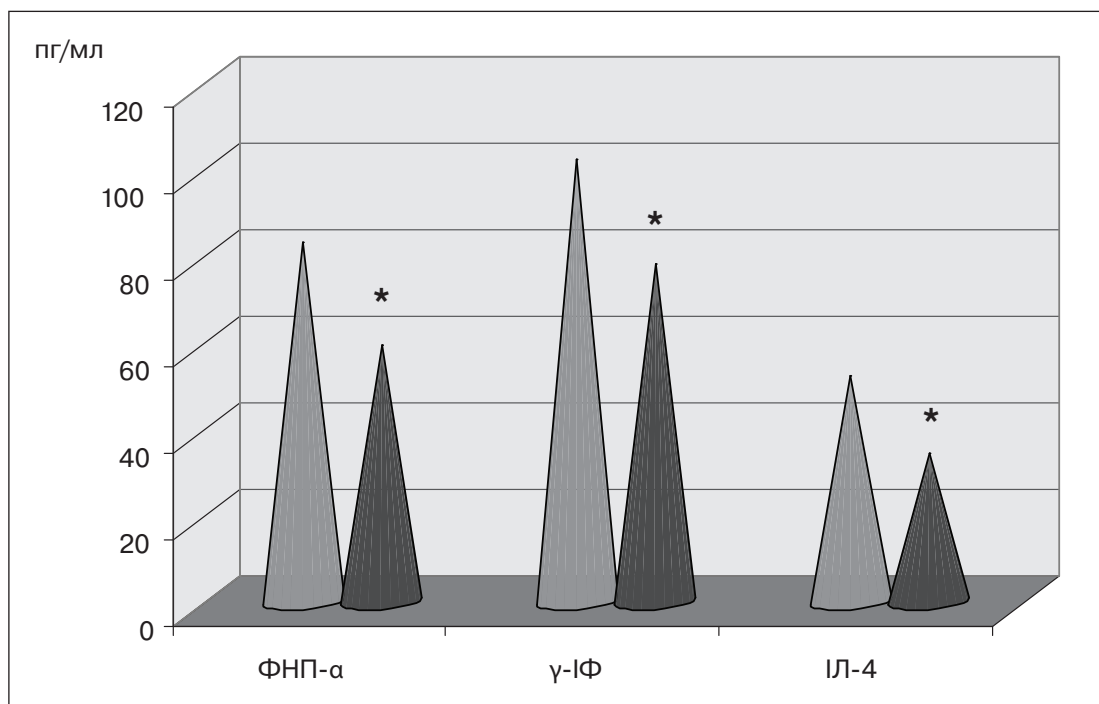


Рис. 4. Співвідношення γ -ІФ/ІЛ-10 у хворих з П/ЧКЛР до (Var 1) та після лікування (Var 2).

Підрозділ групи хворих з задовільним перебігом на підгрупи залежно від форми ГН продемонстрував, що у хворих з проліферативними ГН (I, 1 гр) достовірно знижувались рівні ФНП- α

($p=0,025$), γ -ІФ ($p=0,019$), ІЛ-4 ($p=0,015$) (рис. 5) та співвідношення ІФ/ІЛ-10 від $1,79 \pm 0,33$ до $1,02 \pm 0,11$ ($p=0,019$).



* - різниця достовірна

Рис. 5. Рівень цитокінів крові у хворих на проліферативні ГН з задовільним перебігом (I, 1 гр) до та після курсу терапії.

У хворих на непроліферативні ГН з задовільним перебігом (П/ЧКЛР) (I, 2 гр) достовірної динаміки вивчених цитокінів не було ($p>0,05$); можна вважати, що позитивна динаміка в групі П/ЧКЛР (I) відбувалась за рахунок хворих на проліферативні ГН (I, 1 гр).

Розподіл груп на підгрупи залежно від підтвердженого морфологічного діагнозу представлений на рис. 6. Аналіз виявив особливості динаміки показників цитокінової ланки залеж-

но від форми ХГН, НС. Так, у разі задовільної відповіді на лікування для МезПГН характерно зниження γ -ІФ, співвідношення γ -ІФ/ІЛ-10, ІЛ-4, ТФР- β , СЕФР, але γ -ІФ знижувався і при ТП. При задовільному перебігу МПГН показники γ -ІФ та СЕФР не змінювалися, але, на відміну від МезПГН, знижувався рівень ФНП- α і тіж самі γ -ІФ/ІЛ-10, ІЛ-4, ТФР- β . Для непроліферативних ГН – МГН та ФСГС - таких прогнозоопозитивних маркерів не виявлено.

Отримані дані дозволяють підтвердити високий рівень вивчених медіаторів імунітету у хворих на гломерулонефрити, виявити спільні ознаки цитокінової ланки для проліферативних та непроліферативних форм, особливості динаміки для кожної форми залежно від перебігу захворювання під впливом терапії. Отримані результати дозволять використовувати визна-

чені цитокіни як додаткові прогнозопозитивні/негативні маркери в динаміці спостереження за реакцією на лікування в клініці. Прогнозування ризику подальшої незадовільної відповіді на терапію спонукатиме до більш диференційованого, індивідуального призначення схем імуносупресивних препаратів та цитостатиків у хворих на ГН.

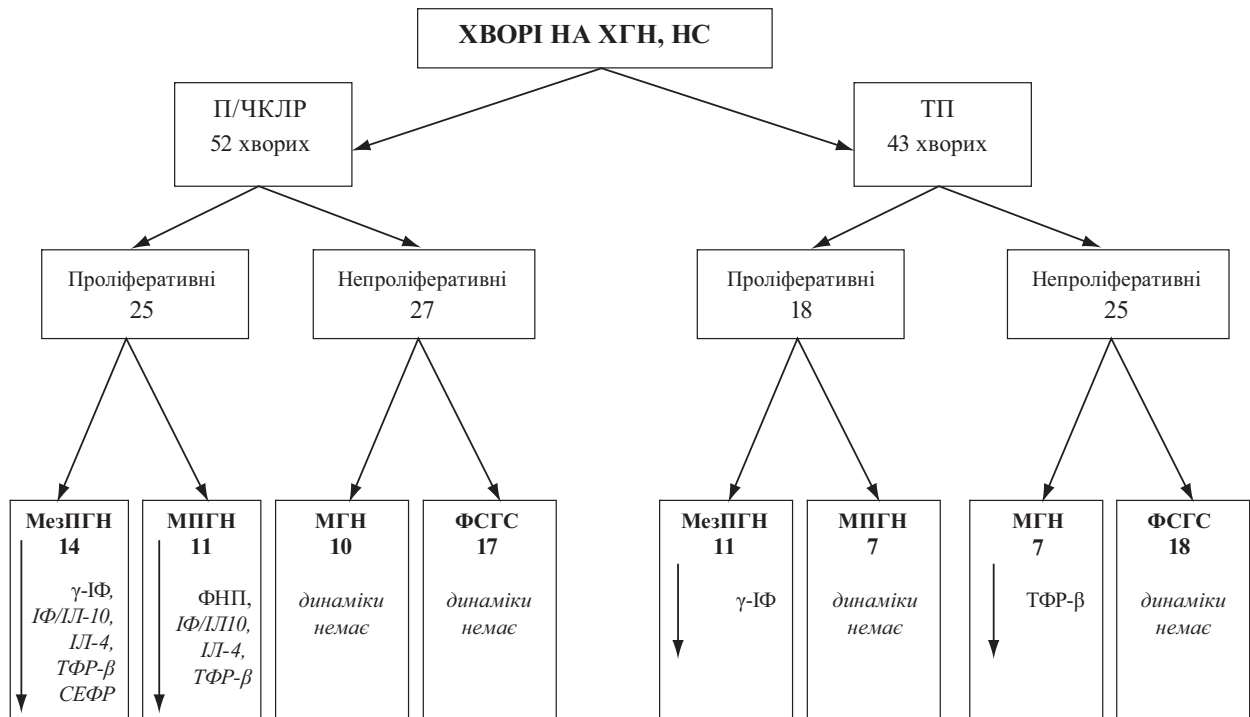


Рис. 6. Зміни рівнів цитокінів у хворих на різні форми ХГН з позитивним (П/ЧКЛР) та незадовільним (ТП) результатами лікування

ЛІТЕРАТУРА

1. Бездетко Т. В. Особенности иммунологического гомеостаза больных латентной формы хронического гломерулонефрита / Т. В. Бездетко // Медицина сегодня и завтра. – 2000. – № 2. – С. 31–33.
2. Вашурина Т. В. Цитокины и адгезивные молекулы в патогенезе первичного хронического гломерулонефрита : дис. ... канд. мед. н.: 14. 01. 37 / Татьяна Валериевна Вашурина. – М., 2002. – 154 с.
3. Джаналиев Б. Р. Экспрессия некоторых цитокинов и факторов роста при гломерулопатиях / Б. Р. Джаналиев, Е. М. Пальцева, В. А. Варшавский, Е. П. Голицина // Нефрология и диализ. - 2003.- № 3. - С. 211-215.
4. Дядык А. И. Почка и сердце, сердце и почка: аспекты лечения / А. И. Дядык // Мистецтво лікування. – 2004. - № 2. – С. 36 – 40.
5. Картамышева Н. Н. Некоторые механизмы формирования тубуло-интерстициального

- компонента при хронических заболеваниях почек / Н. Н. Картамышева, О. В. Чумакова, А. Г. Кучеренко // Мед научный и учебно-методический журнал. – 2002. - № 6. - С. 176-187.
6. Клінічна нефрологія (за редакцією Л.А.Пирога). – К. : Здоров'я. – 2004. – 526 с.
7. Колесник М. О. Нефрологічна служба в 2003 році : здобутки, проблеми та шляхи їх вирішення / М. О. Колесник, Н. О. Сайдакова / Укр. Журнал нефрології та діалізу. - 2004. - № 1. - С. 12-16.
8. Синяченко О. В. Ремоделирование тубуло-интерстиция и роль нефропротекции в прогрессировании хронических гломерулонефритов / О. В. Синяченко, Г. А. Игнатенко, И. В. Мухин // Нефрология. - 2006. - № 1. - С. 99-102.
9. Шулуток Б. И. Лечение гломерулонефритов / Б. И. Шулуток // Нефрология. – СПб. : Ренкор, 2002. – С. 338-359.

10. Circulating lymphocyte subsets linked to intracellular cytokine profiles in normal humans / M. Matsui, S. Araya, H.-Y. Wang [et al.] // *Clinical and Experimental Immunology*. – 2003. – Vol. 134, № 2. – P. 225-229. (67)
11. *Cornish A. L.* Suppressor of cytokine signaling-1 has IFN-gamma-independent actions in T cell homeostasis / A. L. Cornish // *J. Immunol*. – 2003. – Vol. 170, № 2. – P. 878-886.
12. *Deegens J. K. J.* Review on diagnosis and treatment of focal segmental glomerulosclerosis / J. K. J. Deegens, E. J. Steenberg, J. F. M. Wetzels // *The Netherlands J. of Med.* – 2008. – V. 66. – P. 3-12.
13. Factors predicting for renal survival in primary FSGS / J. Rojas Rivera, M. Perez [et al.] // *Nefrologia*. – 2008. – № 28 (4). – P. 439-446.
14. *Gupta S.* Connective tissue growth factor: potential role in glomerulosclerosis and tubulointerstitial fibrosis / S. Gupta, M. R. Clarkson, J. Duggan [et al.] // *Kidney Int.* – 2000. – Vol. 58. – P. 1389-1399.
15. *Klahr S.* The role of vasoactive compounds, growth factors and cytokines in the progression of renal disease / S. Klahr, J. J. Morissey // *Kidney Int.* – 2000. – Vol. 57, Suppl. 75. – P. 7-14.
16. *Levey A. S.* Chronic kidney disease as a global public health problem: Approaches and initiatives – a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes / A. S. Levey, R. Atkins, J. Coresh [et al.] // *Kidney International*. – 2007. – 72. – P. 247-259.
17. *Ostalska-Nowicka D.* / D Ostalska-Nowicka [et al.] Vascular endothelial growth factor (VEGF-C1)-dependent inflammatory response of podocytes in nephrotic syndrome glomerulopathies in children: an immunohistochemical approach // *Histopathology*. - 2007. - 46 (2). – P. 176-183.
18. *Palermo A.* Relationship of transforming growth factor-beta1 with tumour necrosis factor-alpha and endothelial activation in patients with stable renal transplantation / Alessandro Palermo [et al.] // *Nephrology*. – 2008. – Vol. 13, Issue 2. – P. 164-170.
19. *Sartelet Hervé* Sirolimus-Induced Thrombotic Microangiopathy is Associated with Decreased Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Kidneys / Herv Sartelet [et al.] // *American Journal of Transplantation*. – 2007. – 5 (10). – P. 2441-2447.
20. *Segerer S.* Chemokines and chemokine receptors in renal pathology / S. Segerer, C. E. Alpers // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* – 2003. – Vol. 12, № 4. – P. 243-249.
21. *Tipping P. G.* Glomerulonephritis, Th1 and Th2 : what's new? / P. G. Tipping and A. R. Kitching // *Clinical & Experimental Immunology*/ - 2005. - 142 (2). - P. 207-215.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ФОРМЫ И ТЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА С НЕФРОТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Малашевская Н. М.¹, Дриянская В. Е.¹, Дранник Г. Н.², Величко М. Б.¹, Савченко В. С.², Непомнящий В. Н.¹, Ликсунова Л.А.¹

ГУ «Институт нефрологии АМНУ»¹;
ГУ «Институт урологии АМНУ»²

В работе исследованы уровни цитокинов и факторов роста у больных хроническим гломерулонефритом, выявлены общие характеристики цитокинового звена для пролиферативных и непролиферативных форм, особенности фоновых показателей и динамики для отдельных морфологических форм в зависимости от течения заболевания под влиянием терапии. Полученные результаты позволят использовать цитокины как дополнительные прогнозоопозитивные маркеры в динамике наблюдения при лечении в клинике.

Ключевые слова: цитокины, хроническая болезнь почек, гломерулонефрит, нефротический синдром.

SUMMARY

PECULIARITIES OF CYTOKINE LINK OF IMMUNITY DEPENDING ON THE FORM AND COURSE OF CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS WITH NEPHROTIC SYNDROME

Malashevskaya N., Driyanska V., Drannik G., Velichko M., Savchenko V., Nepomnyashchy V., Liksunova L.

We investigated the levels of cytokines and growth factors in the patients with chronic glomerulonephritis, disclosed the mutual signs of a cytokine link for the proliferative and nonproliferative forms, the peculiarities of the background findings and the dynamics for some morphologic forms in dependence on the course of a disease under the therapeutic effect. The final results allow to use the defined cytokines as the additional positive/negative markers in the dynamics of following the reaction of treatment at hospital.

Key words: cytokines, chronic renal disease, glomerulonephritis, nephrotic syndrome.