

СОДЕРЖАНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ: СВЯЗЬ С ДЛИТЕЛЬНОСТЬЮ ЗАБОЛЕВАНИЯ, ЧАСТОТОЙ И АКТИВНОСТЬЮ ОБОСТРЕНИЙ

Е. И. Слободян

Кафедра педиатрии с курсом физиотерапии ФПО (зав. кафедрой – проф. Н.Н. Кападзе), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь.

THE CONTENT OF SERUM INTERLEUKIN IN CHILDREN WITH CHRONIC PYELONEPHRITIS: ASSOCIATION WITH DISEASE DURATION, FREQUENCY AND ACTIVITY OF EXACERBATIONS

E. I. Slobodyan

SUMMARY

We have examined 60 children aged 6 to 16 years with chronic pyelonephritis and established the content of interleukins in the blood serum as function of different characteristics of the disease. We have revealed that the IL10 and IL17 values depend on the duration of the disease, frequency of exacerbations and their activity, the of IL12 values depend on the frequency of exacerbations and their activity, and the IL4 values only depend on the frequency of exacerbations, which indicates dysfunction of Th1, Th2 and Th17 subpopulations of T-helper cells and shows deep violation of the cellular and humoral immunity.

ВМІСТ ІНТЕРЛЕЙКІНІВ СИРОВАТКИ КРОВІ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПІЕЛОНЕФРИТ: ЗВ'ЯЗОК З ТРИВАЛІСТЮ ЗАХВОРЮВАННЯ, ЧАСТОТОЮ ТА АКТИВНІСТЮ ЗАГОСТРЕНЬ

Е. І. Слободян

РЕЗЮМЕ

Нами обстежено 60 дітей у віці від 6 до 16 років, хворих на хронічний піелонефрит. Визначали вміст інтерлейкінів сироватки крові в залежності від різних характеристик перебігу захворювання. Виявлено залежність значень IL10 і IL17 від тривалості захворювання, частоти його загострень і їх активності, IL12 від частоти загострень та активності, а IL4 тільки від частоти загострень, що вказує на дисфункцію Th1, Th2 і Th17-субпопуляцій Т-хелперів і свідчить про глибокі порушення в системі клітинного та гуморального імунітету.

Ключевые слова: дети, хронический пиелонефрит, ремиссия, интерлейкины.

Возможной причиной инвалидирующих последствий хронического пиелонефрита (ХП), таких как стойкая артериальная гипертензия и почечная недостаточность, может быть постинфекционное повреждение почечной паренхимы, обусловленное хроническим воспалением и клеточной пролиферацией [1, 5]. Воспаление при ХП представляет собой инфекционно-индуцированный, генетически детерминированный комплексный процесс, в котором задействованы практически все системы. Хроническая дисфункция иммунной системы – одно из звеньев патогенеза ХП, где значительная роль отводится действию цитокинов, осуществляющих короткодистантную регуляцию межклеточных и межсистемных взаимодействий. Эти соединения непосредственно участвуют в процессе нефрогенеза и определяют степень нефросклероза. [3, 4, 6]. Определение их уровня в сыворотке крови и моче детей, больных ХП, может выступать в качестве маркеров активности воспалительных и склеротических процессов, обуславливающих течение и исход воспалительного процесса тубуло-интерстициальной ткани почек.

Цель исследования: определение содержания интерлейкинов сыворотки крови у детей, больных ХП с различными характеристиками его течения.

Материалы и методы исследования. Нами обследовано 60 детей, больных ХП, в возрасте от 6 до 16 лет, средний возраст пациентов составил - 11,3±2,87 лет. По гендерному составу преобладали девочки, количество которых составило 48 (80 %) человек, мальчиков – 12 (20 %). Обструктивным пиелонефритом страдало 53 (88,3 %); необструктивным – 7 (11,7 %) детей. Анализ клинико-anamnestических и лабораторных данных позволил констатировать у всех детей состояние клинико-лабораторной ремиссии. Указанный диагноз устанавливался на основании общепринятых критериев, в соответствии с МКБ Х. Группу контроля составили 15 условно здоровых детей аналогичного возраста, не имеющих жалоб, клинических признаков и анамнестических данных, свидетельствующих о наличии какого-нибудь хронического заболевания.

Комплекс лабораторных исследований, помимо традиционно принятого в нефро-урологической

практике, включал определение в сыворотке крови и мочи пациентов интерлейкина - 4 (IL-4), интерлейкина - 10 (IL-10), интерлейкина - 17 (IL-17) с помощью стандартных наборов («Вектор Бест», Россия) и интерлейкина - 12 (IL-12) посредством стандартного набора (eBioscience, Austria). Исследование уровня трансформирующего фактора роста (TGF- β 1) в сыворотке крови проводили с помощью стандартных наборов («DRG int., Inc», USA). Фактор некроза опухоли (TNF- α) в сыворотке крови определяли посредством стандартного набора (ООО «Цитокин», С-Пб, Россия). Исследования проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа. В исследовании использовали полуавтоматический анализатор Stat Fax 2100 производства USA.

Констатацию обструктивной уретиты производили на основании стандартного рентгеноурологического обследования. От родителей и детей старше 12 лет, принимавших участие в исследовании, было получено письменное информированное согласие на проведение данного исследования.

Статистический анализ результатов проведен с помощью Statistica 6.0 for Windows.

Результаты исследования и их обсуждение. Определение концентрации цитокинов в сыворотке крови детей, больных ХП, показало, что средние уровни IL-12 у них существенно отличаются от нормативных значений.

У детей, страдающих ХП, выявлена зависимость уровня IL-12 сыворотки крови не столько от длительности заболевания, сколько от частоты его обострений и их активности ($r=+0,7$; $p<0,001$). IL-12 является ключевым цитокином для усиления клеточно-опосредованного иммунного ответа и инициации эффективной противoinфекционной защиты. Один из важнейших эффектов IL-12 - способность поворачивать дифференцировку Th0 в сторону Th1.

Так, у пациентов, имеющих частые обострения ХП, уровень IL-12 составил $14,72\pm 3,13$ pg/ml, $p<0,05$; достоверная разница, $p<0,001$, отмечалась между показателями пациентов с 1 и 3 степенями активности последнего обострения. Наиболее высокие значения исследуемого цитокина выявлены у детей с неблагоприятным сочетанием рассматриваемых факторов: частыми обострениями с высокой активностью воспалительного процесса - $18,19\pm 0,73$ pg/ml (рис.1).

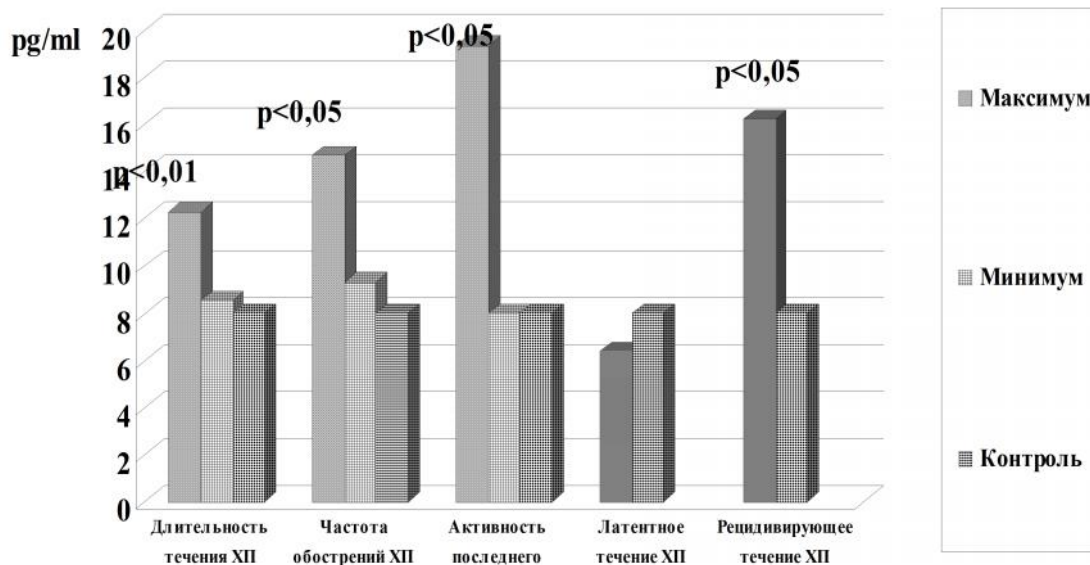


Рис.1. IL-12 сыворотки крови в зависимости от особенностей течения хронического гломерулонефрита.

Повышенный синтез IL-12 может вызвать чрезмерную активацию клеточно-опосредованного иммунного ответа, возможно с развитием аутоиммунного компонента, свидетельством чего является повышенный у данной категории пациентов уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) ($0,35\pm 0,21$ ед, $p<0,05$). Самый низкий уровень IL-12 зафиксирован у пациентов с латентным течением микробно-воспалительного процесса - $6,41\pm 0,73$ pg/ml, что может быть связано с неспособностью возбудителя индуцировать синтез IL-12 или, напротив, с селективной ингибцией его синтеза, что позволяет возбудителям длительно персистировать в орга-

низме больного ХП.

Изменений значения IL-12 в зависимости от клинической формы ХП и длительности его течения не выявлено.

Многочисленными воспалительными и гемопатическими эффектами на эпителиальные, эндотелиальные клетки и фибробласты известен IL-17 [16]. IL-17 вырабатывается Т-хелперами 17-го типа (Th17), вовлекающимися в иммунный ответ при бактериальном заражении, патогенетически связанном с развитием хронических воспалительных заболеваний. Ряд авторов склоняются к тому, что Th17 и IL17 являются не столько провоспалительными,

сколько выступают в роли медиаторов иммунного ответа, и могут демонстрировать супрессорное или провоспалительное влияние, или оставаться «нейтральными по отношению к воспалению» в зависимости от локального микроокружения [2, 14]. IL-4, IL-12 могут ингибировать Th17 и IL17, поскольку Th1 и Th2 – клетки являются антагонистами по отношению друг к другу [9, 13, 17]. Однако IL17 не ингибирует дифференцировку Th1 и Th2, поэтому эти клетки всегда доминируют над Th17 [15].

В представленном исследовании дети, страдающие ХП, имели повышенный уровень IL-17, составляющий $1,60 \pm 0,31$ pg/ml, $p < 0,05$ с преобладанием у пациентов, больных неструктуривной формой – $2,45 \pm 0,87$ pg/ml, $p < 0,05$ по сравнению с $1,34 \pm 0,29$ pg/ml при наличии обструктивного ХП. Проведенные нами исследования также выявили достоверное ($p < 0,05$) повышение уровня TNF- α у

больных с неструктуривным ХП ($2,95 \pm 0,27$ pg/ml, $p < 0,05$), что, с одной стороны, свидетельствует о преобладании в патогенезе иммунных механизмов патологического процесса при ХП без нарушений уродинамики, а с другой является косвенным подтверждением исследований [12], показавших, что IL-17 вызывает синтез TNF- α и других провоспалительных факторов. В настоящем исследовании выявлена зависимость уровня IL-17 не только от частоты и интенсивности обострений, но, в отличие от IL-12, и от длительности заболевания (рис.2).

Наиболее высокие уровни выявлены у пациентов, имеющих сочетание длительного течения, частых обострений с 2-3 степенями активности воспалительного процесса, что составило $2,23 \pm 0,81$ pg/ml, $p < 0,01$. У них же имел место и самый высокий уровень TGF- $\beta 1$ – $497,18 \pm 47,22$, $p < 0,01$ pg/ml.

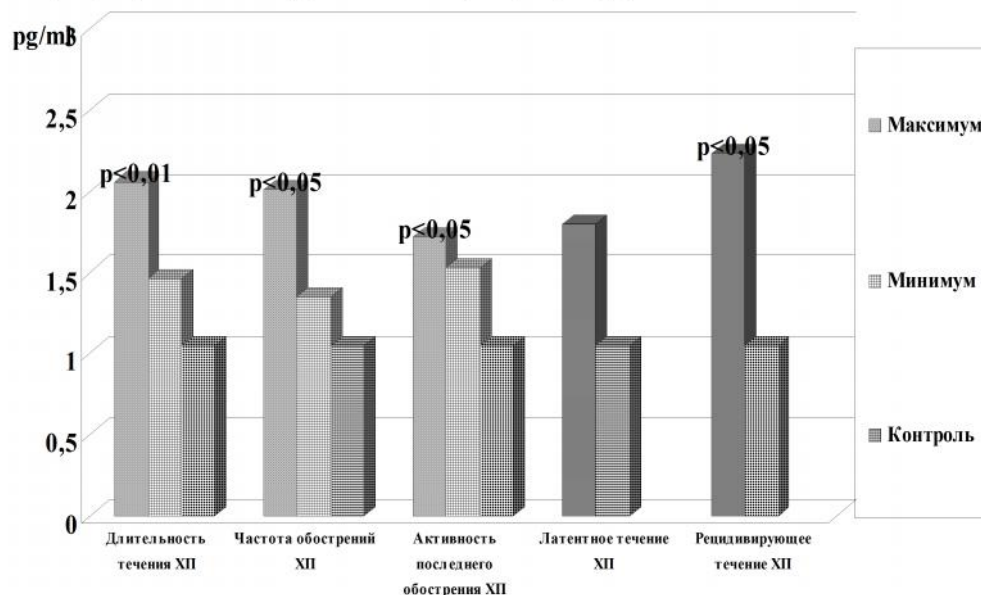


Рис.1. IL-17 сыворотки крови в зависимости от особенностей течения хронического пиелонефрита.

Экспериментальные исследования последних лет свидетельствуют о роли TGF- β в цитокиновой регуляции дифференцировки Th17, причем эффекты TGF- β очень зависят от его концентрации. В низких дозах он индуцирует дифференцировку Th17, в то время, как высокие дозы TGF- β ингибируют их развитие и стимулируют Т-регуляторные лимфоциты [18]. По другим данным, TGF- β в сочетании с IL-6 индуцирует дифференцировку наивных Т-клеток периферической крови в Th17 и экспрессию IL-17 [7]. Выявлена взаимозависимость профибротического цитокина TGF- $\beta 1$ и IL-17, что подтверждает наличие позитивной корреляционной связи $r = +0,57$; $p < 0,001$. Возможно, IL-17 участвует в провокации усиленного образования мезангиального матрикса, а учитывая данные литературы [8, 10, 11], свидетельствующие о его воспалительных эффектах и усилении под его воздействием продукции

MCP-1 (монокитарного хемотаксического протеина 1) может косвенно способствовать профибротической активности.

Пациенты, имеющие незначительный стаж заболевания, редкие обострения, невысокую степень последнего обострения или латентный характер процесса значимых отличий IL-17 от нормальных значений не имели.

Подавление активности нейтрофилов со сменой в очаге воспаления нейтрофильной инфильтрации на макрофагально-монокитарную с целью предотвращения их гиперактивации, истощения функциональных возможностей и развития иммунопатологических реакций, осуществляют противовоспалительные цитокины.

Физиологическим регулятором цитокинов является IL-10 - продукт Th2, ингибирующий Th1-ответ. Наряду с активацией гуморального звена иммунной

защиты организма IL-10 обладает мощным противовоспалительным и иммуномодулирующим эффектом. Способность IL-10 ингибировать продукцию провоспалительных цитокинов макрофагами связана с его способностью угнетать продукцию IL-12. Выявлена достоверная зависимость уровня IL-10 сыворотки крови от всех рассматриваемых нами факторов: длительности заболевания, характера процесса, частоты обострений, активности последнего.

Так, у пациентов, имеющих частые обострения, но незначительный стаж заболевания (до 3-5 лет) уровень IL-10 составил $7,61 \pm 1,75$ pg/ml, что достоверно, $p < 0,01$ превышает норму. Резко усиленную продукцию IL-10 макрофагами могут стимулировать, например, ЦИК, уровень которых был повышен у пациентов с частыми обострениями. При этом избыток IL-10 ведет к снижению противоинфекционной защиты, что способствует прогрессированию микробно-воспалительного процесса тубуло-интерстициальной ткани.

У пациентов же, болеющих более 5-7 лет, значение IL-10 мозаично: у детей, имеющих длительную ремиссию ХП (редкие обострения), достоверные изменения со стороны IL-10 отсутствовали; с выраженными активностью и частотой обострений – повышены до $5,99 \pm 1,02$, $p < 0,05$; достоверно снижены у больных с непрерывно рецидивирующим и латентным течением, $p < 0,05$. У детей, имеющих длительную ремиссию ХП, достоверные изменения со стороны IL-10 отсутствовали вне зависимости от продолжительности болезни.

К противовоспалительным цитокинам относится также IL-4, который продуцируется преимущественно Т-лимфоцитами, относящимися к субпопуляции Th2. Основная функция IL-4 – это контроль пролиферации, дифференцировки и функций В-лимфоцитов. В настоящем исследовании выявлена зависимость уровня IL-4 исключительно от частоты обострений ($r = -0,49$; $p < 0,01$).

Так, у пациентов с частыми обострениями ХП, вне зависимости от степени их активности и длительности заболевания, выявлен достоверно сниженный уровень IL-4, составивший $0,36 \pm 0,20$, $p < 0,01$, имеющий значимое отличие ($p < 0,001$) от показателя детей, имеющих редкие обострения и длительные периоды ремиссии, напротив, достоверно повышенного $2,34 \pm 0,26$, $p < 0,05$.

ВЫВОДЫ

При определении концентрации цитокинов в сыворотке крови детей, больных ХП, было показано, что средние уровни IL у них существенно отличаются от нормативных значений, полученных для периферической крови здоровых детей. Выявлена зависимость значений IL10 и IL17 от длительности заболевания, частоты его обострений и их активности, IL12 от частоты обострений и активности, а IL4 только от частоты обострений. Данный факт указы-

вает на дисфункцию Th1, Th2 и Th17-субпопуляций Т-хелперов, что свидетельствует о глубоких нарушениях в системе клеточного и гуморального иммунитета и, как следствие, недостаточной иммунной реакции в ответ на внедрение инфекционного агента, вызывающего, в конечном счете, обострение ХП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Игнатова М.С. Проблемы нефрологии детского возраста на современном этапе развития медицины (Лекция)/ М.С. Игнатова // Нефрология и диализ. – 2011. – т. 13, №2. – С. 66-75.
2. Кологривова И. В. Молекулярные аспекты функционирования Т-хелперов 17-го типа / И. В. Кологривова, Е.Н. Кологривова, Т.Е. Суслова // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. - № 4. – 93-99.
3. Морозова О.Л. Патогенетические обоснования принципов диагностики, прогнозирования развития и профилактики хронического обструктивного пиелонефрита у детей в периоперационном периоде: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Саратов, 2010. 50 с.
4. Паунова С.С. Динамика продукции цитокинов при инфекции мочевой системы у детей / С.С. Паунова, А.Г. Кучеренко, И.Е. Смирнов // Нефрология и диализ. – 2008. – Т. 10, № 1. – С. 51-55.
5. Утц И.А. Концепция хронической болезни почек и тубулоинтерстициальные нефропатии в педиатрической нефрологии / И.А. Утц, М.Л. Костина // Педиатрия. – 2008. - Т. 87, № 1. – С.146-149.
6. Цитокиновый профиль крови и мочи у детей с обструктивными уропатиями / П.В. Глыбочко, Д.А. Морозов, А.А. Свистунов и др. // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2010. - № 2. – С. 52-57.
7. A critical function for transforming growth factor beta, interleukin 23 and proinflammatory cytokines in driving and modulating human Th-17 responses / E. Volpe, N. Servant, R. Zollinger et al. // Nature Immunology. - 2008. - Vol.9. - P. 650-657.
8. An IL-17F/A heterodimer protein is produced by mouse Th17 cells and induces airway neutrophil recruitment / S.C. Liang, A.J. Long, F. Bennet et al. // J. Immunol. – 2007. - Vol.179. - P. 7791-7799.
9. Divergent effects of IL-12 and IL-23 on the production of IL-17 by human T cells / M.A. Hoeve, N.D. Savage, T. de Boer et al. // Eur. J. Immunol. - 2006. - Vol. 36. - P. 661-670.
10. Identification of an interleukin 17F/17A heterodimer in activated human CD4- T cells / J.F. Wright, Y. Guo, A. Quazi et al. // J. Boil. Chem. - 2007. - Vol. 282. - P. 13447-13455.
11. IL-17A and IL-17P stimulate chemokines via MAPK pathways (ERK ? and p38 but not JNK) in mouse cultured mesangial cells: synergy with TNF- α and IL-1 β / M. Iyoda, T. Shibata, M. Kawaguchi et al. // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. - 2010. - Vol.298, №3. - P. F779-F787.
12. IL-17A is produced by TH17, гд T cells and other CD4- lymphocytes during infection with

Salmonella enteric serovar Enteritidis and has a mild effect in bacterial clearance / S.M. Schulz, G. Kohler, C. Holscher et. al. // International Immunology. - 2008. - Vol. 9, №9. - P. 1129-1138.

13. Interleukins 1 beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells / E.V. Acosta-Rodrigues, G. Napolitani, A. Lanzayecchia et.al. // Nat. Immunol. - 2007. - V.8. - P. 942-949.

14. O'Connor W., The dual nature of Th17 cells: shifting the focus to function / W. O'Connor, L.A. Zenewicz, R.A. Flavell // Nature Immunology. - 2010. - Vol.11, №6. - P. 471-476.

15. Phenotypic differences between Th1 and Th17 cells and negative regulation by Th17 / S. Nakae, Y. Iwakura, H. Suto et al. // J. Leukoc. Biol. - 2007. - Vol. 81. - P. 1258-1268.

16. Stumhofer J.S. Negative regulation of Th17 responses / J.S. Stumhofer, J.Silver, C.A. Hunter // Semin. Immunol.- 2007. - Vol. 13.- P. 394-399.

17. TH17 cells contribute to uveitis and scleritis and are expanded by IL-2 and inhibited by IL-27/STAT1 / A. Amadi-Obi, C.R. Yu, X. Liu et al. // Nat. Med. - 2007. - Vol. 13. - P. 711-718.

18. Th17 cells in human disease / L.A. Tesmer, K. Lundy, S. Sarkar et. al. // Immunological Reviews. - 2008. - Vol. 223. - P. 87-113.