

ИММУНОЛОГИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ЭНДОТОКСИНОВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОГО ПИЕЛОНЕФРИТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Летифов Г.М., Беловолова Р.А., Хорунжий Г.В.

ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Ростов-на-Дону, Россия

Цель исследования: изучение патогенетических механизмов участия липополисахаридов (ЛПС) грамотрицательных бактерий в возникновении и хронизации пиелонефрита (ПН) в эксперименте.

Материалы и методы: ПН моделировался на основе феномена Шварцмана путем введения белым лабораторным крысам массой 180-200 г в почечную ткань 0.1 мл раствора ЛПС Клебсиеллы-211 (в концентрации 17.5 мкг в 1 мл физиологического раствора) с последующим внутривенным введением разрешающей дозы 1 мл раствора ЛПС в той же концентрации и бактериальной взвеси *E. Coli* 2 • 10⁶ КОЭ/мл через 24 часа (Патент РФ № 214963). Наблюдения осуществляли до 35 недель. Комплексное исследование включало изучение морфологической картины, степени бактериальной обсемененности почечной ткани, уровня специфических антител (Ат) к ЛПС в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) в динамике развития острого и хронического ПН.

Результаты и их обсуждение: морфологической картины характеризовалась развитием в опытной почке через 48 часов типичных признаков острого ПН с наличием нейтрофильной инфильтрации в сосудах и интерстиции. Через 4-5 недель преобладала лимфогистиоцитарная инфильтрация разной степени выраженности, отмечались очаги склероза, дистрофия и атрофия канальцев, что соответствовало картине хронического ПН со стромально-клеточным или тубуло-стромальным компонентом. Бактериологическое исследование в острой фазе процесса (через 24 часа после моделирования), давали сплошной рост *E. Coli* или 50-60 колоний в отпечатках срезов почек у всех животных этой группы. Начиная с 11-х суток наблюдения, частота положительных посевов с обеих почек колебалась от 50 до 75%, интенсивность роста 6-8 колоний.

В группе контроля титр Ат к ЛПС не превышал 1:10.. При моделировании ПН, уже в первые сутки после внутривенного введения ЭТ обнаруживались Ат, реагирующие с ЛПС в высоком титре с превышением данных контрольной группы более чем 3 раза (коэффициент соотношения показателей — Q — 3.5). На 7-е сутки наблюдения регистрировалось максимальное превалирование титра этих Ат (Q — 45.4) К 11 суткам наблюдения концентрация Ат у животных опытных групп достоверно не отличалась от группы контроля Сопоставление титра

Ат, реагирующих с ЛПС и морфологических изменений выявил взаимозависимость этих параметров. Повышение титра Ат к ЛПС в первые 7 суток развития экспериментального ПН совпадало с выраженностью клинических, морфологических, бактериологических маркеров острой воспалительной реакции. Формирование хронического воспалительного процесса сопровождалось снижением титра Ат, реагирующих с ЛПС.

Итак, полученные данные позволяют предполагать, что в патогенезе острого и хронического ПН имеет значение сенсibilизация организма ЭТ грамотрицательной микрофлоры. Первоначальное увеличение титра Ат, реагирующих с ЛПС, носит защитный характер и направлено на связывание ЭТ. Последующие снижение титра Ат к ЛПС указывает на недостаточность этого механизма антиэндоксинной защиты и может быть использовано как критерий выраженности эндотоксинемии.

При продолжающемся патологическом процессе, выраженных локальных клеточных реакций в интерстициальной ткани почек отсутствие дополнительных элиминационных возможностей организма способствует, вероятно, персистенции инфекции и накоплению ЛПС, что в свою очередь, приводит к дальнейшей сенсibilизации и хронизации микробно-воспалительного процесса.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОКИНОВ В МОЧЕ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ ДЕТЕЙ В ДИНАМИКЕ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ПИЕЛОНЕФРИТА

Рыжикова С.Л., Дружинина Ю.Г., Захарова Н.Б.¹

ЗАО «Вектор Бест», Новосибирск, Россия

¹Саратовский государственный медицинский университет, Саратов, Россия

Пиелонефрит — воспалительное поражение почек на фоне бактериальной инфекции — в детском возрасте занимает второе место после заболеваний верхних дыхательных путей. Хронический пиелонефрит (ХПН) развивается из острого пиелонефрита, либо возникает как первичный хронический процесс и достаточно часто протекает в латентной форме, поэтому диагностика его ранних стадий представляет серьезную проблему.

Цель работы — анализ изменений концентрации ряда цитокинов в сыворотке крови и моче у детей в динамике терапии хронического пиелонефрита и оценка их связи с развитием воспаления.

Материалы и методы. Обследовано 20 детей среднего возраста 4,5±3,6 лет с обострением ХПН. В их число были включены больные с обструктивной формой пиелонефрита, а также дети с ХПН необструктивного характера. Группу сравнения составили 20 детей с малой хирургиче-

ской патологией (пупочной или паховой грыжей) в пре-операционном периоде.

Концентрацию цитокинов в сыворотке крови и моче определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), используя соответствующие наборы реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Исследование цитокинов у детей с ХПН проводили трехкратно: при поступлении в стационар до начала антибактериальной терапии (1-я точка), через 5-7 дней от начала курса лечения (2-я точка), через 1,5 месяца после завершения лечения (3-я точка).

Результаты и обсуждение. Все дети с первого дня обострения ХПН получали комплексное лечение, основным компонентом которого явилась антибактериальная терапия.

В результате количественного анализа исследуемых биомаркеров у детей с ХПН в динамике течения заболевания особое внимание заслуживает очень высокий уровень ИЛ-10 в моче в период обострения заболевания (1-я точка) и уменьшение его до нормальных значений через 1,5 месяца после завершения лечения (3-я точка). Это может свидетельствовать о реализации механизма «уклонения» инфекционных патогенов от иммунного ответа, опосредованного в первую очередь фагоцитами. Блокируя главный комплекс гистосовместимости II класса активированных моноцитов/макрофагов и ингибируя гломерулярную инфильтрацию моноцитов, ИЛ-10 дезактивирует макрофаги. Следствием этого является угнетение секреции цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, TNF α и снижение их содержания в сыворотке крови и моче детей с ХПН. Подавление острой воспалительной реакции, как ответ иммунной системы на инфекцию, приводит к дальнейшему развитию хронического воспалительного процесса.

Через 5-7 дней от начала курса лечения (2-я точка) концентрация ИЛ-10 в моче больных детей снижается почти на порядок, а в сыворотке крови – в 2 раза. Возможно, это является следствием проводимой терапии, приводящей к гибели возбудителей бактериальной инфекции, активации их антигенами клеток иммунной системы и стимуляции местной воспалительной реакции. Данный процесс сопровождается повышением уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8 и MCP-1 в моче, но не в сыворотке крови. Увеличение продукции MCP-1 в этот период заболевания вполне закономерно, поскольку именно этот хемокин играет ведущую роль в формировании воспалительного инфильтрата в почечной паренхиме. Диффундируя через базолатеральную поверхность тубулярных клеток в интерстиций, MCP-1 привлекает на борьбу с патогеном огромное количество моноцитов/макрофагов и лимфоцитов. Образующиеся при этом перитубулярные воспалительные инфильтраты приводят к формированию «атубулярных клубочков» с последующим ремоделированием почечного кровотока и развитием выраженной тканевой гипоксии, которая является основным индуктором усиленной выработки VEGF.

Как показано в результате исследования через 1,5 месяца после завершения лечения (3-я точка) уровни провоспалительных цитокинов в моче продолжают нарастать. Это, с одной стороны, способствует элиминации бактериальных патогенов, а с другой – может привести к негативным тубулоинтерстициальным изменениям паренхимы почек и нарушению уродинамики у больных.

Выводы. Таким образом, результаты исследования данных биомаркеров в моче могут служить основанием для коррекции курса проводимой терапии ХПН у детей,

причем изменение их уровней в динамике более показательно, чем в сыворотке крови.

Уровень ИЛ-10 в моче детей с ХПН может быть использован в качестве диагностического и прогностического показателя развития хронического воспаления, а концентрация провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8 и MCP-1 для оценки местной воспалительной реакции.

УРОВЕНЬ ФАКТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА В МОЧЕ ПРИ ОДНОСТОРОННЕМ ГИДРОНЕФРОЗЕ У ДЕТЕЙ РАННЕГО ВОЗРАСТА – РАЗЛИЧИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ IN SITU И В МОЧЕВОМ ПУЗЫРЕ

Семикина Е.Л., Русаков А.А., Филянская Е.Г., Акулова С.С., Копыльцова Е.А., Шарков С.М., Яцык С.П., Маянский Н.А.

ФГБНУ Научный центр здоровья детей, Москва, Россия

Введение: современные диагностические технологии позволяют выявить пороки формирования мочевых путей у детей раннего возраста задолго до их клинической манифестации (в том числе выявить порок внутриутробно). Оценка иммунных механизмов развития воспаления и риска склерозирования почек имеют большое значение для выработки оптимальной тактики ведения таких пациентов и выбора сроков хирургической коррекции пороков.

Материалы и методы: обследовано 20 детей возраста от 3 мес до 2 лет с односторонним гидронефрозом, выявленным при профилактическом УЗИ-исследовании; в течение 3-4 мес после постановки диагноза отмечена отрицательная динамика процесса, в связи с чем проведена реконструктивная операция на чашечно-лоханочной системе. Клинических признаков воспалительного процесса не выявлено ни у одного пациента, общий анализ крови, уровень с-реактивного белка, биохимическое исследование крови и уровень иммуноглобулинов у всех детей до операции были в пределах нормы. Исследованы в сравнении пробы мочи из мочевого пузыря и непосредственно из лоханки почки (получены при вскрытии или пункции лоханки интраоперационно). Во всех пробах определен уровень лейкоцитов, эритроцитов и бактерий в 1 мкл мочи (метод проточной урочитометрии, анализатор Sysmex UF 1000i), а также определение концентрации комплекса цитокинов методом мультиплексного анализа (анализатор BioPlex200; BioRad, США, тестовая система Bio-Plex Pro Human Angiogenesis Panel).

Результаты: в пробах мочи из мочевого пузыря присутствие ангиотензина не определялось, в моче из почки его наличие определено в 8 пробах из 20; средняя концентрация составила 28 мкг/мл. Средний уровень фоллистатина в моче из пузыря и почки составил 96 ± 25 и 221 ± 44 мкг/мл, соответственно ($p < 0,05$); концентрация гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF) 7.7 ± 2.6 и 23.8 ± 5.7 мкг/мл ($p < 0,05$). Определенные концентрации интерлейкина 8 (ИЛ8) выявило примерно 30-кратное увеличение уровня в лоханке почки – 10.8 ± 3.25 и 299 ± 72.5 мкг/мл, соответственно ($p < 0,005$). При оценке уровня фактора роста гепатоцитов (HGF) отмечена только тенденция к более высокому уровню в почке: 1468 ± 233 и 2185 ± 487 мкг/мл, соответственно; различия недостоверны). Различия в уровне фактора роста, выделенного из тромбоцитов (PDGF) – 15 ± 2.3 и 33.2 ± 7.2 мкг/мл – также не достигли порога достовер-

ности вследствие значительного разброса данных. Средняя концентрация фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF) оказалась однородно высокой в моче из мочевого пузыря и из лоханки почки — 175.6 ± 29 и 161.5 ± 31.2 мкг/мл, соответственно. Более высокий уровень G-CSF и ИЛ8 хорошо согласуется с большей выраженностью признаков воспалительного процесса в почечной лоханке в виде значимо различающейся протеинурии (0 в мочевом пузыре и 1.36 ± 0.4 г/л в почке), лейкоцитурии (8.3 ± 1.8 и 78 ± 18 в 1 мкл, соответственно), гематурии 16.7 ± 3.7 и 123 ± 30 в 1 мкл) и бактериурии (23.3 ± 6.0 и 256.2 ± 76.0 в 1 мкл, соответственно) (для всех перечисленных показателей $p < 0,05$).

При анализе всего комплекса показателей обнаружены следующие значимые корреляции: выявлена положительная корреляция между уровнем фоллистатина и G-CSF ($r = +0,557$), фоллистатина и PDGF ($r = +0,598$), также положительная корреляция между уровнем G-CSF и PDGF ($r = +0,905$); а также между уровнем G-CSF и числом бактерий в 1 мкл мочи ($r = +0,538$).

Заключение: полученные результаты свидетельствуют о тесной связи уровня факторов склерозирования с наличием воспалительного процесса, даже при его небольшой длительности, и являются обоснованием для проведения хирургической коррекции врожденного порока формирования почки в ранние сроки заболевания.

УРОВЕНЬ ИНТЕРФЕРОНА- α И ИНТЕРФЕРОНА- γ У МУЖЧИН С ХРОНИЧЕСКИМ УРЕТРИТОМ

Чепурнова Н.С., Маркелова Е.В.

ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Владивосток, Россия

Цель исследования. Оценить уровни ИФН α и ИФН γ у мужчин с рецидивирующим генитальным герпесом и при ко-инфекции с хламидиозом.

Материалы и методы. Проведено исследование венозной крови у 30 пациентов с хроническим уретритом в возрасте 20–45 лет: у 13 чел. (43,3%) был верифицирован хронический рецидивирующий герпетический уретрит, у 17 чел. (56,7%) был установлен диагноз хронического уретрита смешанной бактериально-вирусной этиологии (генитальный герпес, хламидиоз). Группу сравнения составили 30 практически здоровых мужчин-добровольцев. Определение уровня ИФН γ в сыворотке крови проводили с помощью специфических реактивов фирмы «R&D Diagnostics Inc.» (США), ИФН α — «Вектор Бест» (Россия) методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа, согласно прилагаемых инструкций. Учет результатов производили с помощью иммуноферментного анализатора «Multiscan» (Финляндия). Статистическая обработка материала проводилась методом описательной статистики с применением t-критерия Стьюдента с помощью компьютерной программы «Biostat».

Результаты и обсуждение. Констатируется повышение уровня ИФН γ ($p < 0,01$) в группе мужчин с хроническим герпетическим уретритом, тогда как у пациентов с ко-инфекцией содержание ИФН γ не отличалось от референсных величин. Считаем, что у пациентов с ко-инфекцией можно говорить об относительном дефиците ИФН γ , который свидетельствует о функциональном де-

фекте Th-1 лимфоцитов. Известно, что при хламидийном уретрите дефицит ИФН γ на локальном уровне свидетельствует о депрессии Th-1 типа и нарушении функции макрофагов при моно- и микст-хламидийных уретритах. Кроме того, ИФН γ играет ключевую роль в эрадикации хламидий, низкий уровень которого является причиной появления персистирующих форм. Зафиксировано статистически значимое повышение уровня ИФН α в обеих группах мужчин с хроническим уретритом по сравнению с контролем, что является компенсаторной реакцией в ответ на вирусную и вирусно-бактериальную инфекцию.

Заключение. Выявлена активация продукции ИФН α и ИФН γ и повышение их уровня в сыворотке крови мужчин с рецидивирующим генитальным герпесом. Установлен относительный дефицит ИФН γ при ко-инфекции с хламидиозом, что отражает недостаточность активации Th-1 типа ответа у этой категории пациентов.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ТЕЧЕНИЯ ИДИОПАТИЧЕСКОЙ IgA-НЕФРОПАТИИ

Юркевич М.Ю., Зафранская М.М.

Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

Увеличение количества пациентов с IgA-нефропатией (IgAN, болезнь Берже) и быстрое прогрессирование заболевания, приводящее к терминальной стадии хронической почечной недостаточности в течении первых 10–25 лет, диктует необходимость поиска предикторов неблагоприятного течения IgAN.

Цель исследования: оценка диагностической значимости иммунологических показателей в определении тяжести течения IgAN.

Методы исследования: В исследование включено 59 пациентов с идиопатической IgAN и 40 здоровых доноров (группа сравнения), сопоставимых по возрасту и полу. Иммунологический скрининг включал количественную характеристику субпопуляций лимфоцитов периферической крови методом проточной цитометрии, определение концентраций иммуноглобулинов в сыворотке и утренней порции мочи (иммуноферментный анализ), оценку количества циркулирующих иммунных комплексов (метод селективной преципитации в 3,75% полиэтиленгликоле). Статистический анализ данных проводили в программе SPSS Statistics 17.0 с использованием U-критерия Манна-Уитни. Для оценки влияния показателей на прогноз IgAN использовался метод логистической регрессии, показатель отношения шансов (ОШ (95% доверительный интервал ОШ)) и ROC-анализ.

Результаты: Исследование показателей гуморального иммунного ответа установило развитие у пациентов с IgAN хронического воспалительного иммунокомплексного иммунного ответа, характеризующегося снижением CD19⁺ В – лимфоцитов (9,1 (7,0–10,4) % vs. 11,1 (8,4–14,0) % в группе сравнения, $p = 0,02$), наряду с увеличением уровня экспрессии мембраносвязанного IgA1 на В – лимфоцитах (21,1 (16,4–30,8) % vs. 15,0 (6,8–22,4) %), $p < 0,01$), высокой спонтанной функциональной активностью клеток и наличием гипергаммаглобулинемии/гипергаммаглобулинурии.

В периферической крови пациентов с IgAN в отличие от группы сравнения выявлено снижение CD3⁺ Т – лим-

фоцитов с Vδ2 T – клеточным рецептором (1,9 (1,1÷3,1) % и 3,1 (1,6÷5,8) %, соответственно, $p < 0,01$) и увеличение количества «двойных позитивных» CD3⁺4⁺8⁺ T – лимфоцитов (0,8 (0,6÷2,1) % и 0,6 (0,4÷1,3) %, соответственно, $p = 0,04$). При этом у пациентов с высоким количеством CD3⁺4⁺8⁺ T – лимфоцитов шанс развития неблагоприятного течения увеличивался в 2,1 раза (ОШ: 2,09 (1,05 – 4,19)), тогда как при повышении содержания γδ T – лимфоцитов шанс прогрессирования заболевания снижался на 51% (ОШ: 0,49 (0,27 – 0,89)).

На основании данных многофакторной логистической регрессии выделены наиболее информативные признаки и разработана математическая модель определения вероятности неблагоприятного течения IgAN: $p = 1/1 + 2,718^{-z}$, где $z = 1,788 * [\text{количество циркулирующих «двойных позитивных» } \gamma\delta \text{ T – лимфоцитов, \%}] - 2,118 * [\text{количество T-лимфоцитов, \%}] - 0,046 * [\text{значение скорости клубочковой фильтрации, мл/мин}] + 5,852 (\chi^2 =$

31,65, $p < 0,001$). Значение $p > 0,686$ (68,6%) является оптимальной точкой для стратификации пациентов в группу с неблагоприятным течением IgAN.

Заключение: на основании данных иммунологического скрининга и результатов многофакторного статистического анализа выделены основные признаки неблагоприятного течения идиопатической IgAN: количество циркулирующих γδ T – лимфоцитов, «двойных позитивных» T – лимфоцитов, значение скорости клубочковой фильтрации. Построенная математическая модель обладает высокими значениями диагностической чувствительности (89,5% (95% доверительный интервал: 66,9% – 98,7%)) и специфичности (94,1% (71,3% – 99,9%)), что позволяет рекомендовать ее для оценки вероятности прогрессирования заболевания, выбора оптимальной тактики лечебных мероприятий и мониторинга эффективности проводимой терапии.