

© Коллектив авторов, 2007

С.В. Мальцев¹, А.Б. Полетаев², Г.Ш. Мансурова¹

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ АУТОАНТИТЕЛ К ПОЧЕЧНЫМ АНТИГЕНАМ В РАЗВИТИИ ПИЕЛОНЕФРИТА У ДЕТЕЙ

¹ ГОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия», г. Казань;

² Медицинский исследовательский центр «Иммункулус», Москва

Работа посвящена определению уровня естественных аутоантител (ЕААТ) у здоровых новорожденных (n=10), у детей группы высокого риска по развитию патологии органов мочевой системы, чьи матери страдали гестационным пиелонефритом (ПН) или урогенитальными заболеваниями во время беременности (n=56), а также у пациентов с текущим ПН (n=40). Исследовали ЕААТ к мембранным (KiM-05-40, KiM-05-300) и цитозольному (KiS-07-120) антигенам почек. У 21 (37,5%) новорожденного ребенка из группы риска и у 24 (60%) больных ПН выявлен повышенный уровень нефротропных ЕААТ в сыворотке крови. Изменения в содержании нефротропных ЕААТ, вероятно, могут служить доклиническим признаком развития ПН и быть дополнительным критерием для оценки прогноза и течения заболевания.

Article is dedicated to determination of natural autoantibodies (NAAB) level in healthy neonates (n=10), in children from the group with high risk of urinary tract pathology development, born by mothers with history of gestation pyelonephritis (PN) or urogenital diseases during pregnancy (n=56) and in patients with current pyelonephritis (n=40). Authors determined NAAB to membrane (KiM-05-40, KiM-05-300) and cytosol (KiS-07-120) renal antigens. 21 neonates from risk group (37,5% of cases) and 24 patients with PN (60% of cases) had increased level of serum nephrotropic NAAB. Changes of nephrotropic NNAB level can, probably, be pre-clinical sign of PN development and could be additional criterion for estimation of PN severity and prognosis.

Известно, что в организме здоровых людей на протяжении всей жизни постоянно синтезируются естественные аутоантитела (ЕААТ) к антигенам собственных органов и тканей. Предполагается, что такие ЕААТ принимают участие в клиренсе организма от продуктов естественного катаболизма и участвуют в регуляции множества физиологических функций [1, 2]. Сывороточное содержание ЕААТ одной и той же специфичности у здоровых лиц относительно постоянно, а уровни их синтеза и секреции в норме отличаются очень небольшими индивидуальными вариациями и мало зависят от пола и возраста [1]. Установлено, что нормальное содержание различных по специфичности сывороточных ЕААТ у детей раннего возраста колеблется в пределах от –40 до –10 условных единиц (у.е.) [3]. В то же время развитие патологических процессов сопровождается существенными изменениями в продукции и сывороточном содержании ЕААТ соответствующей органной направленности. В одних случаях эти изменения могут быть первичными (и лежать в основе развития соответствующей патологии), в других – быть вторичными по отношению к органным патохимическим изменениям, возникающим под влиянием иного (неиммунного) этиоло-

гического начала [1, 4, 5]. Развитие любого заболевания на молекулярном уровне сопровождается нарушением синтеза и распада компонентов клеток органа, что приводит к изменению продукции органоспецифических ЕААТ, которое можно считать маркерным признаком возникновения (наличия) патологического процесса в органе [6]. Изменения содержания этих предикторов болезни могут возникать за много месяцев или даже лет до клинической манифестации заболевания [3, 5].

В развитии пиелонефрита (ПН) выделяют неспецифическую (воспалительную) и специфическую (иммунологическую) стадии, которые взаимно сопряжены и представляют единый механизм патогенеза. На стадии специфического иммунного воспаления основу патологического процесса составляет инфильтрация интерстиция почек лимфоцитами и плазматическими клетками, интенсивный синтез ЕААТ к почечным антигенам, образование иммунных комплексов и их отложение на базальных мембранах канальцев с выделением биологически активных лимфокинов, которые усиливают процессы деструкции [7]. При хронизации ПН наблюдается интерстициальный фиброз, расширение канальцев, возможны их генерализован-

ная атрофия, уплощение и дистрофия эпителия, утолщение базальных мембран канальцев [8]. Прогрессирование патологического процесса в паренхиме почек, по всей вероятности, должно приводить к изменению продукции нефротропных ЕААТ, что можно определять по изменению их содержания в сыворотке крови.

Цель данной работы – установить диагностическое и прогностическое значение определения уровня ЕААТ к почечным антигенам в сыворотке крови у здоровых новорожденных, детей из группы высокого риска по развитию патологии органов мочевой системы (ОМС), а также у пациентов с манифестным текущим ПН.

Материалы и методы исследования

В исследование были включены 106 детей, составившие 2 группы наблюдения (n=96) и одну референтную группу (n=10).

В 1-ю группу наблюдения (группа высокого риска) включены 56 новорожденных. У большинства матерей этих детей (82,1%) был установлен гестационный ПН, у остальных (17,9%) выявлены воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ) хламидийной (*Chl. trachomatis*) или микоплазменной (*M. hominis*) этиологии, протекавшие без признаков ПН. Обследование новорожденных осуществляли на 5–6-й день жизни, затем в возрасте 6 мес и в дальнейшем еще в течение 2,5 лет эти дети находились под наблюдением, в ходе которого ежеквартально проводили их клиническое обследование, выполняли анализы мочи, при необходимости проводили УЗИ ОМС, исследование функций почек.

Во 2-ю группу наблюдения включены 40 детей в возрасте от 3 мес до 16 лет с верифицированным диагнозом ПН (от 3 мес до 3 лет – 12 пациентов; от 3 до 7 лет – 10; от 7 до 10 лет – 6; от 10 до 16 лет – 12 детей). У 8 детей был диагностирован острый ПН, у 32 – хронический (у 16 – рецидивирующее течение, у 16 – латентное). Обструктивный ПН был установлен у 12 детей, у 6 из которых отмечался уретерогидронефроз. Длительность заболевания ПН у 20 (50%) детей составила более 5 лет, у 8 (20%) – от 1 до 5 лет, у 4 (10%) – до 1 года, у 8 (20%) пациентов ПН был выявлен впервые. Дети с ПН наблюдались в условиях нефрологического отделения, где им регулярно проводили клинко-лабораторное обследование (анализы крови и мочи, бактериологический посев мочи, оценка парциальных функций почек и др.), различные инструментальные исследования (УЗИ почек, по показаниям экскреторная урография, микционная цистоуретрография, цистоскопия, урофлоуметрия и др.).

Референтную группу составили 10 здоровых доношенных новорожденных от соматически здоровых матерей, не имевших ВЗОМТ и/или признаков инфекционно-воспалительных процессов иной локализации.

Исследование сывороточного содержания ЕААТ у детей всех групп проводили с использованием сертифицированных тест-систем ЭЛИ-Тест (МИЦ «Иммункулус», Москва). Исследование нефротропных ЕААТ проводили методом иммуоферментного анализа (ИФА) с использованием метода ЭЛИ-Нефро-Тест [1]. Определяли содержание ЕААТ класса IgG к белкам паренхимы почек: KiM-05–40 (анионный белок мембранной фракции почек с молекулярной массой около 40 кД), KiM-05–300 (анионный белок мембранной фракции почек с молекулярной массой около 300 кД), KiS-07–120 (белок с выраженными анионными свойствами, относящийся к цитоплазматической фракции почек, с молекулярной массой около 120 кД) [1]. Методом ИФА (ЭЛИ-АИМ-Тест) в сыворотке крови также определяли ЕААТ к двуспиральной ДНК и Fc-фрагментам иммуноглобулинов (Ig), более известный как ревматоидный фактор (РФ) [1]. Изменения в содержании РФ отражают общий уровень неспецифической поликлональной активации иммунной системы (при воспалительных процессах любой органной локализации). При одновременном измерении уровней нефротропных ЕААТ и РФ (ЕААТ к двуспиральной ДНК и Fc-фрагментам Ig), можно дифференцировать избирательные (специфические) нарушения в паренхиме почек от общего (неспецифического) повышения иммунореактивности организма [1].

Непосредственно перед исследованием сыворотку крови обследуемых разводили 1:200 0,15 М NaCl, вносили в лунки планшетов (Нунк-Максисорб, Дания) с предварительно сорбированными антигенами, инкубировали при +2...+8 °С в течение 14–16 ч, после чего проводили стандартную процедуру ИФА. В качестве хромогена использовали раствор тетраметилбензидина с H₂O₂. Регистрацию проводили на длине волны 450 нм с помощью ИФА-анализатора («ЭФОС», Россия). Результаты оценки сывороточной иммунореактивности (ИР) анализируемых проб, полученные в единицах оптической плотности, пересчитывали по отношению к ИР сыворотки «внутреннего стандарта» с теми же антигенами* и выражали в у.е. [4]. Так, если ИР анализируемой сыворотки с каким-либо антигеном была выше реакции «внутреннего стандарта», она выражалась со знаком «плюс», если ниже со знаком «минус» (например, 120% от ИР реакции «внутреннего стандарта» равнялось +20 у.е., а 80% –20 у.е.).

Результаты и их обсуждение

В 1-й группе наблюдения (n=56) в период новорожденности повышенный уровень нефротропных ЕААТ обнаружен у 21 (37,5%) ребенка. При

* Формула расчета: $(R(ar) \cdot 100) - 100 / R(st)$, где $R(ar)$ – величина оптической плотности реакции анализируемой сыворотки крови в лунках с соответствующими антигенами; $R(st)$ – величина оптической плотности реакции сыворотки «внутреннего стандарта» в лунках, содержащих те же антигены.

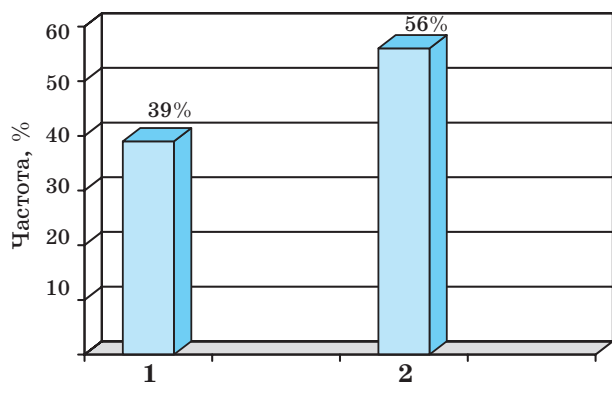


Рис. 1. Число детей 1-й группы, у которых обнаружен повышенный уровень нефротропных ауто-антител при обследовании в периоде новорожденности и в возрасте 6 месяцев.

этом у 15 (26,8%) детей выявлено повышенное содержание всех трех классов нефротропных ЕААТ; у 4 (7,1%) – двух классов ЕААТ (к одному из мембранных антигенов KiM-05-40 или KiM-05-300 и к цитоплазматическому антигену KiS-07-120); у 2 (3,6%) детей были повышены ЕААТ только к цитоплазматическому антигену KiS-07-120 (см. таблицу). Изолированного повышения уровня ЕААТ, направленных избирательно к мембранным антигенам, выявлено не было. Среди новорожденных с повышенным уровнем нефротропных ЕААТ 16 детей родились от матерей с гестационным ПН, 3 – от матерей с ВЗОМТ, у 3 из которых еще антенатально были обнаружены пороки развития почек (с помощью УЗИ). Корреляционный анализ выявил прямую достоверную взаимосвязь между повышением нефротропных ЕААТ и обострением гестационного ПН у матери ($r=0,68$; $p<0,05$). К 6-месячному возрасту число детей с повышенным содержанием нефротропных ЕААТ возросло и достигло 30 (53,6%) человек (рис. 1). Причем у

Таблица

Структура повышения сывороточных уровней естественных аутоантител к антигенам почек у новорожденных детей 1-й группы

Повышенный уровень ЕААТ	Количество детей (%)
К трем почечным антигенам (KiM-05-40, KiM-05-300 и KiS-07-120)	15 (26,8%)
К двум почечным антигенам (KiM-05-40 или KiM-05-300 + KiS-07-120)	4 (7,1%)
К одному почечному антигену (KiS-07-120)	2 (3,6%)
Итого	21 (37,5%)

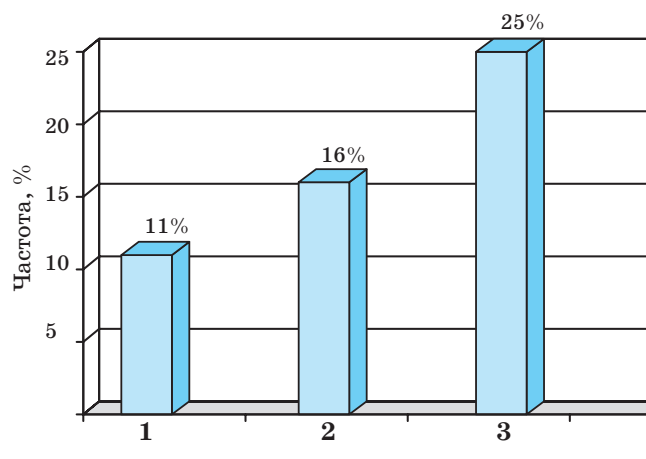


Рис. 2. Число детей 1-й группы, заболевших пиелонефритом за время наблюдения.

94,7% детей, у которых при рождении регистрировалось повышение уровня трех или двух нефротропных ЕААТ ($n=19$), сохранялась повышенная продукция этих же ЕААТ ($n=18$). Нами выявлена прямая корреляционная зависимость между содержанием соответствующих нефротропных ЕААТ, обнаруженных у одних и тех же детей в периоде новорожденности и в возрасте 6 месяцев ($r=0,91$; $p<0,05$).

В ходе дальнейшего мониторинга за детьми 1-й группы выявлен рост заболеваемости ПН (рис. 2): в возрасте 1 года ПН был зарегистрирован у 6 (10,7%) пациентов, к 1,5 годам – у 9 (16,1%), к 2 годам – у 14 (25%). У всех детей, заболевших ПН, было повышено содержание трех или двух нефротропных ЕААТ как при рождении, так и в 6-месячном возрасте.

Снижение уровня ЕААТ к двуспиральной ДНК и Fc-фрагментам Ig (РФ) наблюдалось у 8 (14,3%) новорожденных 1-й группы, повышение – у 3 (5,4%) детей. Выявленные изменения мы расценили соответственно как признаки либо иммуносупрессии, либо повышения неспецифической иммунореактивности. Еще у 2 (3,6%) детей было отмечено сочетанное повышение содержания нефротропных ЕААТ и РФ, которое мы не рассматривали как маркерный признак почечной патологии.

Следует отметить, что у детей 1-й группы наблюдения (группа риска) значения нефротропных ЕААТ были более высокими в период новорожденности, чем в возрасте 6 месяцев, причем, как правило, это сочеталось с низкими значениями РФ (ЕААТ к ДНК и Fc-фрагментам Ig). На наш взгляд, повышенное содержание нефротропных ЕААТ у новорожденных детей из группы высокого риска может быть обусловлено трансплацентарным поступлением ЕААТ той же специфичности, продуцируемых в организме матерей детей данной группы (с гестационным ПН и ВЗОМТ). Воз-

можно, что в подобных ситуациях имеет место материнский иммунный импринтинг [1], посредством которого еще до рождения осуществляется своего рода программирование (настройка) особенностей иммунного реагирования ребенка. Не исключено, что этот феномен лежит в основе ряда форм врожденной патологии (по всей вероятности, не только почечной).

Во 2-й группе наблюдения (больные ПН) повышение уровня хотя бы одного из трех классов почечных ЕААТ отмечено у 24 (60%) детей, у 18 (75%) из которых диагностирован хронический ПН, у 6 (25%) – острый ПН. У 9 (37,5%) из 24 пациентов с повышенным уровнем нефротропных ЕААТ было увеличено содержание всех трех нефротропных ЕААТ: у 5 (20,8%) из этих детей выявлен уретерогидронефроз, а у 4 (16,7%) – длительность заболевания ПН составляла более 5 лет. Повышение двух классов почечных ЕААТ (KiM-05–40 и KiM-05–300) обнаружено у 15 (37,5%) пациентов. Изолированного повышения ЕААТ к цитозольному антигену в данной группе выявлено не было.

У большинства (82,5%) детей 2-й группы (с текущим ПН) не наблюдалось отклонений в содержании РФ (ЕААТ к ДНК или Fc-фрагментам Ig). Однако у одного ребенка (2,5%) обнаружено значительное снижение содержания РФ (по-видимому, транзитное); у 6 детей (15%) было отмечено повышение уровня РФ, что, вероятно, было связано с текущими острыми респираторными заболеваниями в момент обследования.

Динамическое наблюдение в течение одного года за детьми 2-й группы (пациенты с ПН) выявило достаточно интересный, на наш взгляд, факт. А именно: у детей с повышенным содержанием всех трех классов ЕААТ рецидивы заболевания были отмечены в 80% случаев, в то время как среди детей с повышением ЕААТ к двум антигенам почек – лишь в 44%. Таким образом, сочетанное повышение продукции ЕААТ к мембранным и цитозольным почечным антигенам в подавляющем большинстве случаев предшествовало (или сопутствовало) развитию рецидивов ПН.

Следует отметить, что результаты наших исследований полностью совпадают с предположениями и выводами А. Notkins [4], обосновывающего положение о том, что ЕААТ могут быть весьма информативными предикторами различных заболеваний и синдромов (не обязательно аутоиммунных). При этом изменения в содержании органоспецифических ЕААТ в большинстве случаев на месяцы или годы опережают клиническую манифестацию соответствующих форм патологии.

В референтной группе у 9 из 10 новорожденных содержание ЕААТ к почечным антигенам не превышало нормальные значения. У одного ребенка были несколько повышены уровни как всех трех классов нефротропных ЕААТ, так и ЕААТ к ДНК и Fc-фрагментам Ig, что было расценено на-

ми как проявление общего неспецифического повышения активности иммунной системы. Вероятнее всего, подобное повышение было связано с повышенной антигенной нагрузкой на фоне пищевой аллергии, носило транзитный характер и в возрасте 6 мес уже не определялось. Углубленное обследование этого ребенка с помощью различных методов обследования не выявило какой-либо патологии со стороны ОМС или других систем.

Таким образом, обнаружение повышенного содержания нефротропных ЕААТ может позволить выявлять патологические изменения в ОМС еще на доклиническом уровне, что особенно важно для детей с высоким риском развития ПН, а также прогнозировать вероятность развития рецидивов заболевания у пациентов с уже манифестировавшим ПН. Вполне вероятно, что дальнейшие исследования по измерению уровня органоспецифических ЕААТ к почечным белкам позволят устанавливать характер течения и исход воспалительного процесса ОМС, вести мониторинг за эффективностью и адекватностью проводимой терапии. Однако для этого необходимо продолжение исследований по определению ЕААТ к различным классам почечных антигенов при разных заболеваниях ОМС.

Выводы

1. Повышенное содержание двух или трех ЕААТ к почечным антигенам (KiM-05–40, KiM-05–300 и KiS-07–120) в сыворотке крови у новорожденных детей может служить прогностическим (доклиническим) признаком развития ПН.

2. Повышение уровня нефротропных ЕААТ, выявленное в периоде новорожденности у детей, чьи матери страдали гестационным ПН или ВЗОМТ, сохранялось и в последующие месяцы. Это свидетельствует о стойких (длительно сохраняющихся) нарушениях продукции нефротропных ЕААТ, что подтверждает нашу позицию о правомочности и необходимости выделения этих детей в группу высокого риска по развитию патологии ОМС.

3. Среди пациентов с активным пиелонефритическим процессом число повторных атак ПН было достоверно выше у детей с сочетанным повышением содержания ЕААТ к цитозольному и мембранному антигенам почек (80%), чем у детей с высоким уровнем ЕААТ только к мембранным антигенам (44%). На наш взгляд, это является весомым аргументом для обоснования внедрения в нефрологическую (особенно педиатрическую) практику метода определения ЕААТ к мембранным (KiM-05–40, KiM-05–300) и цитоплазматическим (KiS-07–120) антигенам, поскольку может служить ценным прогностическим критерием в отношении риска развития рецидивов ПН.

4. По всей вероятности, существует необходимость проводить параллельную оценку содержания ЕААТ к почечным антигенам и ЕААТ к дву-

спиральной ДНК и Fc-фрагментам Ig, что дает возможность различать специфическое поражение почек от неспецифической поликлональной акти-

вазии иммунной системы, а также позволяет избежать неправильной трактовки результатов (т.е. снизить риск диагностической ошибки).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Поletaев А.Б.* Клиническая и лабораторная иммунология. Избранные лекции. М.: МИА, 2007: 184.
2. *Lacroix-Desmazes S., Kaveri S.V., Mouthon L. et al.* J. Immunol. Met. 1998; 216: 117–137.
3. *Поletaев А.Б., Кузьменко Л.Г.* Методы группы ЭЛИ-Тест в клинической лабораторной практике. Информационное письмо. М., 2004: 32 с.
4. Тезисы докладов 1-й Моск. международной конференции «Естественный аутоиммунитет в норме и патологии». Под

- ред. А.Б. Поletaева. М.: МИА, 2005: 86–88.
5. *Notkins A.L.* New predictors of disease. J. Scientific American. 2007; 296 (3): 54–62.
6. *Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П.* Общая патофизиология. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2001: 443–445.
7. *Возианов А.Ф., Майданник В.Г. и др.* Основы нефрологии детского возраста. Киев: Книга плюс, 2002: 49–50.
8. *Рябов С.И.* Нефрология: руководство для врачей. СПб.: СпецЛит, 2000: 244–245.

© Коллектив авторов, 2007

Р.А. Жетишев, А.М. Мамбетова

ЗНАЧЕНИЕ ОЦЕНКИ УРОВНЯ ЭРИТРОПОЭТИНА ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У ДЕТЕЙ

Кабардино-Балкарский государственный университет, г. Нальчик, РФ

Авторы обследовали 13 детей (средний возраст 14,7 лет) с хронической почечной недостаточностью (ХПН) 1А и 1Б стадии на фоне врожденной и приобретенной патологии органов мочевой системы (ОМС), а также 9 детей (средний возраст 14,1 лет) с ХПН 2А и 2Б стадий на фоне врожденных заболеваний ОМС. Контрольную группу составили 12 здоровых детей (средний возраст 13,2 лет). Анализировали показатели почечных функций (уровень мочевины и креатинина в сыворотке крови, скорость клубочковой фильтрации, суточная экскреция с мочой аммония и титруемых кислот) и их корреляцию с уровнем сывороточного эритропоэтина (ЭПО), который определялся иммуноферментным методом (ООО «Протеиновый контур», СПб). Выявлено снижение продукции ЭПО на ранних стадиях ХПН. Низкий уровень ЭПО не только является причиной развития анемии, но характеризует степень нарушения почечных функций и является ранним диагностическим признаком ХПН.

Authors examined 13 children (mean age 14,7 years) with chronic renal failure (CRF) stage IA–IB due to congenital and acquired diseases of urinary system (US); 9 children (mean age 14,1 years) with CRF stage 2A–2B due to congenital US pathology and 13 healthy children (mean age 13,2 years) as control group. Authors studied parameters of renal function (level of serum urea and kreatinine, glomerular filtration rate, daily urinary excretion of ammonium and titrated acids) in correlation with level of serum erythropoietin (EPO), determined by immunoassay method ("Protein contour" company, St. Petersburg). The study showed decreased EPO production even in early CRF stages. So, low EPO level is not only the origin of anemia, but it characterizes degree of renal insufficiency and it is an early marker of CRF development.

Эритропоэтин (ЭПО) – гормон почек гликопротеиновой природы, контролирующей и регулирующий эритроидную дифференциацию, занимающий основное место в регуляции эритропоэза [1–4]. В последние годы получены новые важные данные о биологических свойствах, роли ЭПО и его рецепторов в функционировании негематологических тканей [5, 6].

Известно, что при хронической почечной недостаточности (ХПН) по мере развития склероза интерстициальной ткани и гибели клеток-продуцентов нарушается продукция ЭПО [2, 7, 8], при

этом динамика уровня ЭПО по мере прогрессирования ХПН у детей остается малоизученной. Оценка инкреторной функции почек по величине продукции ЭПО может помочь получить новые представления о формировании ХПН на ранних ее стадиях.

Цель исследования – оценка инкреторной функции почек по уровню ЭПО у детей с ХПН различной этиологии и стадии.

Материалы и методы исследования

Клиническое обследование больных проводили на базе детского нефрологического отделения