

ЦИТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КЛЕТОЧНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ ОСТРОМ ПИЕЛОНЕФРИТЕ У ДЕТЕЙ

Дементьева Елена Александровна, Степанова Арина Александровна,
Гурина Ольга Петровна, Варламова Ольга Николаевна, Блинов Александр Евгеньевич

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет. 194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2

E-mail: zorra2@yandex.ru

Ключевые слова: субпопуляции лимфоцитов; проточная цитометрия; пиелонефрит; иммунитет; диагностика

Введение. Пиелонефрит — одно из наиболее частых бактериальных заболеваний детского возраста. Его распространенность в РФ среди детей составляет от 0,3% до 4,0%. Подавляющее большинство случаев острой инфекции мочевых путей заканчивается выздоровлением. Но у 10–20% пациентов перенесенное заболевание осложняется очаговым сморщиванием почек, особенно при рецидивах инфекции и наличии пузырно-мочеточникового рефлюкса. Острый пиелонефрит — неспецифическое воспаление лоханок и паренхимы почек. Взаимодействие организма человека и микроорганизмов при развитии пиелонефрита является решающим пусковым фактором, определяющим особенности развития и течения заболевания. Факторы патогенности бактерий запускают каскад провоспалительных иммунных реакций. Медиаторы воспаления повышают проницаемость сосудов и вызывают миграцию нейтрофилов, лимфоцитов и плазматических клеток в очаг инфекции. Интенсивный синтез иммуноглобулинов, образование иммунных комплексов и их отложение на базальных мембранах канальцев с выделением биологически активных лимфокинов усиливают деструкцию и вызывают усиленный синтез коллагеновых волокон, приводящий к фиброзу почек.

Цель исследования. Выявить изменения в субпопуляционном составе лимфоцитов, сопровождающие развитие острого пиелонефрита в детском возрасте.

Материалы и методы. Исследовано 20 пациентов в возрасте от 5 до 17 лет с острым пиелонефритом, получавших антибактериальную и уроантисептическую терапию и имеющих сохранную функцию почек. Фенотипическая характеристика клеток адаптивного и врожденного иммунитета, а также их субпопуляционный состав проводились методом проточной цитометрии (NovoCyte, Acea, USA) по безотмывочной технологии с использованием трехцветной комбинации моноклональных антител, конъюгированных с флуоресцентными метками FITC/PE/PC5: IgG1(mouse)/IgG1(mouse)/CD45, CD3/CD19/CD45, CD3/CD4/CD45, CD3/CD8/CD45, CD3/CD(16+56)/CD45, CD3/HLA-DR/CD45, CD3/CD25/CD45 (Beckman Coulter, USA). Популяции клеток выделялись при помощи гетерогенного гейтирования. Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием стандартных пакетов программ прикладного статистического анализа (Microsoft Office Excel 2010, Statistica for Windows v. 6.1).

Результаты исследования. Анализ данных проточной цитофлуориметрии показал, что состав основных субпопуляций лимфоцитов у обследованных детей соответствуют возрастной норме. Относительное и абсолютное содержание CD19+ В-лимфоцитов у обследованных детей составляет $16,6 \pm 4,1$ и $510,4 \pm 247,1$, соответственно. Относительный и абсолютный уровень CD3+Т-лимфоцитов — $73,7 \pm 5,8$ и $2171,1 \pm 358,3$, соответственно. Относительный и абсолютный уровень NK-клеток составляет $8,9 \pm 3,5$ и $270,5 \pm 183,6$, соответственно. Относительный и абсолютный уровень CD3+CD4+Т-хелперов ($41,4 \pm 5,6$, $1213,7 \pm 198,4$, соответственно) и CD3+CD8+цитотоксических Т-лимфоцитов ($25,3 \pm 3,6$, $754,9 \pm 161,3$, соответственно) также соответствует среднему возрастной диапозону. Однако, соотношение количества Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов — иммунорегуляторный индекс (ИРИ) или иммунное соотношение, имеет тенденцию к снижению (среднее значение ИРИ $1,7 \pm 0,2$). Низкий уровень иммунного соотношения, характерный для иммунодефицитного состояния, отмечается у 25% обследованных детей. Выявлены изменения среди малых субпопуляций лимфоцитов. У 50% обследованных пациентов наблюдается снижение абсолютного и относительного числа активированных Т-лимфоцитов с маркером поздней активации HLA-DR ($27,8 \pm 7,76$ и $1,17 \pm 0,41$, соответственно). Между уровнем ИРИ и содержанием CD3+HLA-DR+лимфоцитов установлено наличие прямой корреляционной связи ($r=0,3$). Относительное содержание $\gamma\delta$ -Т лимфоцитов повышено у 45,5% обследованных детей (средний уровень $6,9 \pm 1,5$). Абсолютное количество $\gamma\delta$ -Т лимфоцитов ($202,4 \pm 110,9$) превышает возрастную норму у 72,7% детей, коррелируя со снижением иммунного соотношения ($r=-0,2$). Данная субпопуляция Т-клеток является фактором врожденного иммунитета, ее повышение сопровождается воспалительным процессом на слизистых оболочках.

Заключение. Обнаруженные изменения в дифференцировке лимфоцитов сопровождают снижение адаптивного иммунитета, а также могут являться предрасполагающим фактором персистенции и реактивации латентной инфекции. Более активная диагностика, включающая цитометрический анализ субпопуляционного состава лимфоцитов, и лечение острого пиелонефрита снижают риск прогрессирования заболевания до развития хронической болезни почек.