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. Обследовано 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+B-лимфоцитов у обследованных детей составляет 16,6±4,1 и 510,4±247,1, соответственно. Относительный и абсолютный уровень CD3+T-лимфоцитов — 73,7±5,8 и 2171,1±358,3, соответственно. Относительный и абсолютный уровень NK-клеток составляет 8,9±3,5 и 270,5±183,6, соответственно. Относительный и абсолютный уровень CD3+CD4+T-хелперов (41,4±5,6, 1213,7±198,4, соответственно) и CD3+CD8+цитотоксических T-лимфоцитов (25,3±3,6, 754,9±161,3, соответственно) также соответствует среднему возрастному диапазону. Однако, соотношение количества T-хелперов и цитотоксических T-лимфоцитов — иммунорегуляторный индекс (ИРИ) или иммунное соотношение, имеет тенденцию к снижению (среднее значение ИРИ 1,7±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 T-лимфоцитов с маркером поздней активации HLA-DR (27,8±7,76 и 1,17±0,41, соответственно). Между уровнем ИРИ и содержанием CD3+HLA-DR+лимфоцитов установлено наличие прямой корреляционной связи (r=0,3). Относительное содержание γδ-T лимфоцитов повышено у 45,5% обследованных детей (средний уровень 6,9±1,5). Абсолютное количество γδ-T лимфоцитов (202,4±110,9) превышает возрастную норму у 72,7% детей, коррелируя со снижением иммунного соотношения (r=–0,2). Данная субпопуляция T-клеток является фактором врожденного иммунитета, ее повышение сопровождает воспалительный процесс 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.