

Angela Ciuntu
**PROTEINA-1 CHEMOATTRACTANTĂ MONOCITARĂ -1 LA COPII
CU GLOMERULONEFRITĂ**

*Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Departamentul Pediatrie
(director departamentului – dr. hab. medicină, prof. univ. Ninel Revenco)*

SUMMARY

MONOCYTE CHEMOATTRACTANT PROTEIN-1 IN CHILDREN WITH GLOMERULONEPHRITIS

The protein-1 chemoattractant monocyte (MCP-1) levels in urine in 65 children with primary glomerulonephritis (GN) at different clinical evolutionary stages of the disease was studied. MCP-1 concentrations in the urine of the patients with nephrotic syndrome (SN) steroid-sensitive and SN steroid-resistant during clinical manifestations and in remission period exceeded of 2.0 - 2.4 times the values of the control group. In chronic glomerulonephritis (CNG) nephrotic form and CNG mixed form during the clinical manifestations period the concentration of MCP-1 in urine exceeded 3.0 and, respectively, 8.5 times the level of this index compared with the control group and 1.8 to 3.5 times compared to the period of remission. Determination of urinary concentrations of MCP-1 may be useful as a predictive non-invasive method for predicting disease activity and monitoring of the evolution of different forms of GN and for the development of effective differentiated therapeutic strategies in these patients.

РЕЗЮМЕ

МОНОЦИТАРНЫЙ ХЕМОАТТРАКТАНТНЫЙ БЕЛОК-1 У ДЕТЕЙ С ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ

Была изучена концентрация моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (МХБ-1) в моче у 65 детей с первичным гломерулонефритом (ГН) в различные клинические стадии эволюции заболевания. Концентрация МСР-1 в моче у больных с стероид-чувствительным нефротическим синдромом (НС) и стероид-резистентным НС, как в периоде выраженных клинических проявлений, так и в периоде ремиссии превышала в 2,0 - 2,4 раза значения контрольной группы. При нефротической форме хронического гломерулонефрита (ХГН) и смешанной форме ХГН, в периоде выраженных клинических проявлений, концентрация МСР-1 в моче в 3,0 раза, и, соответственно, в 8,5 раза превышала уровень этого индекса в контрольной группе детей, и в 1,8 - 3,5 раза по сравнению с периодом ремиссии. Определение уровня МСР-1 в моче может быть использовано в качестве ценного прогностического неинвазивного метода для прогнозирования активности заболевания и мониторинга эволюции различных форм ГН, а также для разработки эффективных дифференцированных терапевтических стратегий у этих больных.

Introducere. Printre diverși biomarkerii prezumtivi, o atenție deosebită merită chemokinele, deoarece acestea joacă roluri relevante în fiziopatologia bolilor renale pediatrice. Evaluarea acestor mediatori ar putea contribui la managementul eficient al diverselor boli renale la copii și la depistarea pacienților cu risc crescut de a dezvolta boala cronică renală (BCR) [1]. Studii recente au demonstrat că celulele mezangiale umane cultivate produc proteina-1 chemoattractantă monocitară (MCP-1), ca răspuns la citokinele inflamatorii, frecvent întâlnite în glomeruli la pacienții cu glomerulonefrită (GN)[4]. MCP-1 reprezintă una dintre cele mai puternice chemoattractante de macrofage/monocite și limfocite T. MCP-1 este produsă la nivel local și induce o serie de evenimente inflamatorii, ceea ce duce la secreția altor citokine, activarea

transcripției și reglementarea factorilor de creștere, în special, celor profibrogenici și factorului de transformare a creșterii (TGF-β) [6, 10].

Până în prezent, există informații insuficiente cu privire la expresia MCP-1 în maladiile glomerulare renale la copii la diferite etape clinico-evolutive ale maladiei.

Scopul studiului constă în evaluarea concentrației proteinei-1 chemoattractante monocitare (MCP-1) în urină la copiii cu glomerulonefrită la etapele clinico-evolutive ale bolii.

Material și metode: Cercetările s-au efectuat la IMSP Institutul Mamei și Copilului (IM și C) și în Laboratorul Biochimie al IP USMF „Nicolae Testemițanu” pe baza probelor biologice colectate conform principiilor contemporane de cercetare, aprobate de

Comitetul de Etică a Cercetării al IP USMF „Nicolae Testemițanu” (Aviz favorabil din 13.05.2015, proces verbal nr.55). Studiul a inclus 65 copii cu glomerulonefrită primară, inclusiv 25 copii cu sindromul nefrotic steroid-sensibil (SNSS) și 15 copii cu sindromul nefrotic steroid-rezistent (SNSR), 10 copii cu glomerulonefrită cronică formă mixtă, 15 copii cu glomerulonefrită cronică formă nefrotică. Copii au fost repartizați în 2 grupuri în funcție de răspunsul la tratamentul cu glucocorticoizi: SNSS și SNSR. Pacienții cu SNSS și SNSR au fost divizați în 2 subgrupuri în raport de activitatea maladiei (SNSS recidivă, SNSS remisiune, SNSR recidivă, SNSR remisiune). Grupul de control l-au constituit 20 copii practic sănătoși.

Diagnosticul GN a fost bazat pe criteriile clinico-paraclinice și explorări biochimice special selectate.

Sindromul nefrotic (SN) a fost diagnosticat în prezența edemelor, proteinuriei masive ($>40 \text{ mg/m}^2/\text{h}$ sau raportul proteină/creatinină urinară $> 2,0 \text{ mg/mg}$) și hipoalbuminемiei ($<2,5 \text{ mg/dl}$).

Sindromul nefrotic steroid-sensibil (SNSS) a fost dominat de normalizarea analizei de urină în decursul a 4 săptămâni, mai rar 8 săptămâni după administrarea glucocorticoizilor și instalarea remisiunii complete.

Sindromul nefrotic steroid-rezistent (SNSR) a fost dominat în cazul menținerii proteinuriei până la nivelul $< 3 \text{ g/dl}$ pe parcursul a 6-8 săptămâni de tratament cu prednisolon în doză de $2 \text{ mg/kg}/24\text{h}$ (nu mai mult de $80 \text{ mg}/24\text{h}$) și efectuarea ulterioară a pulsterapiei cu prednisolon în doză $20-30 \text{ mg/kg}/24\text{h}$ N 3 (dar nu mai mult de 1 g pe parcursul unei cure).

Remisiune completă s-a constatat în cazul rezoluției edemelor, normalizării albuminei serice până la $3,5 \text{ g/dl}$ și reducerii proteinuriei cu $<4 \text{ mg/m}^2/\text{oră}$ ($100 \text{ mg/m}^2/24 \text{ h}$) în 3 analize de urină consecutive.

Recăderea (recidiva) a fost definită ca o recurență a proteinuriei masive ($>40 \text{ mg/m}^2/\text{h}$ sau raportul proteină/creatinină urinară $> 2,0 \text{ mg/mg}$ sau albuminurie $\geq 2+$ pe parcursul a 3 zile consecutive; de regulă cu re-

curența edemelor. Rata de filtrație glomerulară a fost calculată după formula Schwartz.

Determinarea proteinei-1 chemoattractantă monocitară (MCP-1) în urină s-a efectuat cu ajutorul kitului de analize mini-ELISA sandwich al firmei PeproTech Company (SUA), conform instrucțiunilor anexate. Pentru aprecierea diferenței semnificative dintre indicii studiați ai loturilor comparate au fost utilizate metode statistice cu aprecierea mărimii aritmetice medii $[X]$, devierii medii pătrate, erorii medii a mărimii aritmetice medii $[\pm m]$. De asemenea, s-a utilizat testul statistic nonparametric „U Mann-Whitney” și pragul de semnificație $p < 0,05$ (StatsDirect statistical software, version 1.9.5, 2001).

Rezultate. Vârsta medie a debutului SN a fost de $6,4 \pm 0,50$ ani, pentru glomerulonefrita cronică forma mixtă vârsta medie a debutului a constituit $9,1 \pm 0,99$ ani, iar durata bolii a fost de $2,9 \pm 0,47$ ani. Copiii cu SN au fost repartizați după vârstă: 1-5 ani au constituit 45% cazuri, 6-10 ani - 20% cazuri, >10 ani - 35% cazuri.

Manifestările clinice ale SN au fost determinate de edeme ($92,5 \pm 2,9\%$), anasarcă ($60,0 \pm 5,5\%$), micțiuni rare ($48,83 \pm 5,6\%$), cefalee ($22,5 \pm 4,7\%$), dispnee ($1,3 \pm 0,8\%$), sindrom algic abdominal ($8,8 \pm 3,2\%$). Examinările paraclinice efectuate au determinat o hipoproteinemie până la $52,9 \pm 0,91 \text{ g/L}$, albuminele serice - $34,03 \pm 2,82 \text{ g/L}$, majorarea indicilor metabolismului lipidic: lipidele totale sporite până la $9,53 \pm 0,98 \text{ g/L}$, colesterolul - $8,48 \pm 0,35 \text{ mmol/L}$, β -lipoproteidele $99,4 \pm 2,75$ unități convenționale, ureea serică - $6,2 \pm 0,53 \text{ mmol/L}$, creatinina - $0,060 \pm 0,04 \text{ mmol/L}$, proteinuria până la $5,5 \pm 0,66 \text{ g/L}$ în sumarul urinei. Clearance-ul creatininei endogene a constituit $>90 \text{ ml/min}/1,73 \text{ m}^2$.

Rezultatele de evaluare a concentrației MCP-1 în urină la copiii cu diferite forme de glomerulonefrită în fazele de acutizare și remisiune sunt reflectate în tabelul 1.

Tabelul 1

Concentrația MCP-1 în urină la copiii cu diferite forme de glomerulonefrită

n/o	Grupul de pacienți	MCP-1 (pg/ml)	
		acutizare	remisiune
1	Control n=25	50,93 \pm 3,79	
2.	GNA sindrom nefrotic SS n=25	108,02 \pm 8,78**	121,88 \pm 7,26**
3.	GNA sindrom nefrotic SR n=15	96,99 \pm 7,63**	112,13 \pm 6,88**
4.	GNC forma nefrotică n=15	170,32 \pm 12,01; ***	93,21 \pm 8,43** $p_1 < 0,01$
5.	GNC forma mixtă n=10	430,76 \pm 49,73***	122,49 \pm 15,97* $p_1 < 0,01$

Notă: diferență statistic semnificativă în raport cu valorile grupului de control: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$. P_1 —autenticitatea în comparație cu indicele respectiv înregistrat la etapa de acutizare. P_2 —autenticitatea la compararea sindromului nefrotic SS cu sindromul nefrotic SR.

Astfel, s-a stabilit o creștere statistic autentică a nivelului MCP-1 în urină în toate grupurile de pacienți comparativ cu grupul de control.

Concentrația MCP-1 în urină în grupurile de pacienți cu SNSS și SNSR, atât în perioada manifestărilor clinice, cât și în perioada de remisiune depășea

de 2,0 - 2,4 ori valorile grupului de control. Totodată, deosebirile valorilor medii ale MCP-1 în fazele de acutizare și remisiune nu au atins pragul semnificației statistice, cu toate că acestea păreau să fie mai înalte în faza de remisiune comparativ cu perioada manifestărilor clinice. De notat că grupul de pacienți cu SNSS a prezentat valori medii ale MCP-1 în urină mai mari, comparativ cu cei din grupul cu SNSR, dar fără a atinge pragul semnificației statistice.

În lotul de pacienți cu glomerulonefrită cronică (GNC) forma nefrotică și în GNC forma mixtă în perioada acutizării concentrația MCP-1 în urină s-a majorat de 3,3 ori și, respectiv, de 8,5 ori, comparativ cu grupul de control.

În perioada remisiunii în grupurile de pacienți cu GNC MCP-1 rămâne a fi sporită, ceea ce denotă persistența procesului cronic renal.

Discuții. Există puține studii în care să se facă evaluarea modificărilor concentrației urinare a MCP-1 la copiii cu diferite forme de GN la etapele clinico-evolutive ale bolii.

În acest studiu am obținut nivele semnificativ sporite ale concentrației MCP-1 în urină la copiii cu diferite forme de GN în fazele de acutizare și remisiune, cele mai înalte valori fiind înregistrate la copiii cu GNC forma nefrotică și în GNC forma mixtă. Rezultate similare au obținut un șir de cercetători. Astfel, Bobkova I.N., et al., a obținut, de asemenea, creșterea excreției urinare a MCP-1/CCL2 la pacienții cu glomerulonefrită cronică, comparativ cu grupul de control [4]. Nivele ridicate ale MCP-1 în urină au fost determinate în glomeruloscleroza focală segmentară, nefrita lipică și IgA nefropatia. Nivelul ridicat al MCP-1 în urină, probabil, indică prezența injuriei glomerulare la acești pacienți. Concentrația MCP-1 în urină a fost mai înaltă la pacienții cu forme proliferative ale glomerulonefritei, comparativ cu formele non-proliferative [3, 7, 12].

Creșterea importantă a MCP-1 determinată de noi la copiii cu GNC forma nefrotică și cea mixtă ar putea deține un rol important în dezvoltarea și progresarea nefrosclerozei la acești pacienți. Menționăm, în confirmarea celor constatate, datele unor autori ce au demonstrat că MCP-1 mediază depozitarea de colagen în GN experimentală prin expresarea TGF- β . Însăși TGF- β poate contribui la secreția tubulară de MCP-1 în sindromul nefrotic la copii [8, 11].

Asocierea dintre nivelele MCP-1/CCL2 și bolile glomerulare poate fi legată nu numai de leziunea glomerulară, dar și de bolile asociate. Astfel, unele studii demonstrează că nivelele urinare ale MCP-1/CCL2 corelează pozitiv cu nivelele serice ale colesterolului și trigliceridelor numai la pacienții cu boli glomerulare. Prin urmare, MCP-1/CCL2 poate fi produsă în țesutul adipos și/sau celulele inflamatorii, atingând nivele crescute la pacienții cu dislipidemie. MCP-1 contribuie la instalarea insulinorezistenței și promovează

absorbția de acizi grași liberi, aterogeneza și tromboogeneza, efecte care pot afecta direct sau indirect structura și funcția renală [5, 9]. Aceste date sugerează faptul că eliberarea de MCP-1/CCL2 în țesutul renal ar putea fi legată de dislipidemie în bolile glomerulare.

Astfel, dozarea MCP-1 urinare poate fi utilă ca o metoda non-invazivă pentru estimarea activității bolii la copiii cu diferite forme de GN.

Concluzii.

1. La copiii cu diferite forme de glomerulonefrită în fazele de acutizare au fost înregistrate nivele semnificativ sporite ale proteinei-1 chemoattractante monocitare (MCP-1) în urină.

2. În GNC forma nefrotică și în GNC forma mixtă în perioada acutizării concentrația MCP-1 în urină depășea de 3 și 8,5 ori nivelul acestui indice, comparativ cu grupul de control și de 1,8 și 3,5 ori, comparativ cu perioada remisiunii.

3. Determinarea concentrațiilor urinare ale MCP-1 pot fi utile ca o metodă non-invazivă predictivă pentru estimarea activității maladiei și monitorizarea evoluției bolii la copiii cu diferite forme de glomerulonefrită, precum și pentru elaborarea unor strategii terapeutice eficiente și, eventual, diferențiate la acești pacienți.

Bibliografie

1. **Aizawa T., T. Imaizumi, K. Tsuruga et al.** Urinary fractalkine and monocyte chemoattractant protein-1 as possible predictors of disease activity of childhood glomerulonephritis. The Tohoku Journal of Experimental Medicine. 2013, vol. 231, no. 4, pp. 265–270.

2. **Ana Cristina Simões e Silva, André Barreto Pereira, Mauro Martins Teixeira.** Chemokines as Potential Markers in Pediatric Renal Diseases. Disease Markers, 2014, Article ID 278715, 9 pages.

3. **Barbado J., Martin D., Vega L., Almansa R., et al.** MCP-1 in urine as biomarker of disease activity in Systemic Lupus Erythematosus. Cytokine .2012, vol. 60, pp. 583–586.

4. **Bobkova I. N., Chebotareva N.V, Kozlovskaja L.V, et al.** Urine excretion of a monocytic chemotactic protein-1 and transforming growth factor beta1 as an indicator of chronic glomerulonephritis progression. Ter Arkh.2006, vol. 78, pp. 9–14.

5. **Kershaw E.E., Flier J.S.** Adipose tissue as an endocrine organ. J.Clin.Endocrinol.Metab.2004,89 pp.2548–2556.

6. **Kim M. J., Tam F.W.** Urinary monocyte chemoattractant protein-1 in renal disease. Clin.Chim.Acta. 2011, vol.412, pp. 2022–2030.

7. **Marks S.D., Shah V., Pilkington C., Tullus K.** Urinary monocyte chemoattractant protein-1 correlates with disease activity in lupus nephritis. Pediatric Nephrology. 2010, vol. 25, no. 11, pp. 2283–2288.

8. **Schneider, A, Panzer, U, Zahner, G, Wenzel, U, Wolf, G, Thaiss, F, Helmchen, U, Stahl, RAK:** Monocyte chemoattractant protein-1 mediates collagen deposi-

tion in experimental glomerulonephritis by transforming growth factor- β . *Kidney Int.* 1999, vol. 56, pp.135–144.

9. **Vianna H. R., C. M. Soares, K. D. Silveira et al.** Cytokines in chronic kidney disease: potential link of MCP-1 and dyslipidemia in glomerular diseases. *Pediatric Nephrology*, 2013, vol. 28, no. 3, pp. 463–469.

10. **Viedt C., Dechend R., Fei J., Hänsch G.M., Kreuzer J., Orth S.R.** MCP-1 induces inflammatory activation of human tubular epithelial cells: involvement of the transcription factors, nuclear factor-kappaB and activating

protein-1. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13(6):1534-47.

11. **Wang, SN, Lapage, J, Hirschberg, R.** Glomerular ultrafiltration and apical tubular action of IGF-1, TGF-beta, and HGF in nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 1999, vol. 56, pp.1247–1251.

12. **Wasilewska A., Zoch-Zwierz W., Taranta-Janusz K., Kolodziejczyk Z.** Urinary monocyte chemoattractant protein-1 excretion in children with glomerular proteinuria. *Scand..J.Urol.Nephrology.* 2011, Vol. 45, No. 1, pp. 52-59.

© Fl. Cenuşa, P. Martalog, A. Rotari

Fl. Cenuşa, P. Martalog, A. Rotari

PARTICULARITĂȚILE CLINICO-PARACLINICE ALE EDEMULUI QUINCKE LA COPII

*Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Departamentul Pediatrie
(director departamentului – dr. hab. medicină, prof. univ. Ninel Revenco)*

SUMMARY

THE CLINICO-PARACLINICAL PECULIARITIES OF QUINCKE'S EDEMA IN CHILDREN

The study included 69 children with Quincke's edema (QE), who were admitted to the Allergy Department of the Research Institute for Maternal and Child Healthcare from January to December, 2010. The data of anamnesis, clinical examination, of laboratory and instrumental investigations, such as the levels of circulatory immune complexes (CIC), IgE, general blood analysis, biochemistry, USG of internal organs, for to elucidate the anamnesis, clinical and para-clinical peculiarities of QE and the dependence of clinical manifestations from age, sex and year season were studied. The preponderance of urban population affection in comparison to the rural, the preponderance of QE morbidity in the months of spring and summer; the maximal incidence of QE in the age of 0 – 2 years, the difference between clinical picture of isolated and associated with urticaria form of QE, the peculiarities of laboratory and instrumental examinations data, characteristic for this pathology, were demonstrated.

РЕЗЮМЕ

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОТЕКА КВИНКЕ У ДЕТЕЙ

В статье представлены результаты обследования и лечения 69 больных детей с отёком Квинке. В результате проведённого исследования установлены определённые особенности клинического течения отека Квинке в зависимости от возраста, пола и времени года. Чаще всего отек Квинке встречается у детей городской местности в весенне-летний период. Пик заболеваемости наблюдается у детей в возрасте до 2-х лет. Преобладало среднетяжелое течение заболевания, выявлено частое сочетание отёка Квинке с патологией со стороны желудочно - кишечного тракта. Кожные высыпания сопровождалась зудом выраженной интенсивности.

Actualitatea temei. În ultimii ani, actualitatea, importanța și incidența bolilor alergice este în creștere. Potrivit datelor OMS, în ultimii 30 de ani s-a înregistrat o creștere a morbidității cauzată de boli alergice. În SUA, 20% de copii suferă de boli alergice, forme severe, și 40-50% de forme tranzitorii. Edemul angioneurotic (edemul Quinke) se întâlnește la copii

de diferită vârstă. EQ este o boală poli etiologică: pentru depistarea și combaterea cauzelor ei trebuie efectuat un complex de investigații clinice, paraclinice și instrumentale. Boala poate evolua într-o stare foarte gravă care pune viața în pericol. Indiferent de forma bolii și starea generală a pacientului, este necesară spitalizarea și supravegherea lui.