

Rola IL-13 w patogenezie idiopatycznego zespołu nerczykowego (IZN) u dzieci

The role of IL-13 in the pathogenesis of idiopathic nephrotic syndrome (INS) in children

AGNIESZKA PUKAJŁO-MARCZYK^{A-G}, DANUTA ZWOLIŃSKA^{A, E-G}

Katedra i Klinika Nefrologii Pediatricznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

A – przygotowanie projektu badania, **B** – zbieranie danych, **C** – analiza statystyczna, **D** – interpretacja danych, **E** – przygotowanie maszynopisu, **F** – opracowanie piśmiennictwa, **G** – pozyskanie funduszy

Streszczenie Wstęp. Pomimo wielu badań patogeneza IZN pozostaje nadal nie do końca wyjaśniona. Wśród wielu czynników bierze się pod uwagę Th₂-pochodną cytokinę IL-13.

Cel pracy. Ocena stężenia IL-13 w surowicy i moczu dzieci z IZN jako czynnika patogenetycznego oraz markera przebiegu choroby.

Materiał i metody. Zbadano 51 dzieci z IZN oraz 18 dzieci zdrowych. Pacjentów podzielono na grupy w zależności od liczby nawrotów choroby, stosowanego leczenia i podłoża morfologicznego. Stężenie IL-13 w surowicy i w moczu oznaczano metodą ELISA, jednorazowo u dzieci zdrowych, dwukrotnie u chorych – w ostrej fazie choroby i w remisji.

Wyniki. Stwierdzono istotny wzrost IL-13 w surowicy i moczu chorych w ostrym okresie choroby, w porównaniu do dzieci zdrowych. W remisji ulegał on znaczącemu obniżeniu, ale nadal pozostawał istotnie wyższy niż w grupie kontrolnej. Niezależnie od fazy choroby wydalanie IL-13 z moczem pacjentów z pierwszym rzutem IZN było znacząco niższe niż u dzieci z nawrotami oraz wymagających leczenia immunosupresyjnego. Stężenie IL-13 w surowicy nie różnicowało tych grup. We wszystkich postaciach morfologicznych IZN wartości IL-13 w surowicy i moczu były podobne.

Wnioski. Wzrost stężenia IL-13 w surowicy i moczu dzieci z IZN w ostrym okresie choroby oraz znaczący spadek w remisji przemawiają za jej istotną rolę patogenetyczną. Wyższe stężenie IL-13 w moczu pacjentów z nawrotami IZN oraz wymagających leczenia immunosupresyjnego sugeruje przydatność tego parametru jako wskaźnika rokowniczego. IL-13 w surowicy i moczu nie pozwala na różnicowanie podłoża morfologicznego IZN.

Słowa kluczowe: dzieci, interleukina 13, idiopatyczny zespół nerczykowy.

Summary Background. INS pathogenesis has been still unclear. Among many factors Th₂-derived IL-13 cytokine is taken into account.

Objectives. Assessment of serum and urine level of IL-13 in children with INS as a pathogenic factor and a marker of the course of the disease.

Material and methods. 51 children with INS and 18 healthy children were examined. Patients were divided into groups depending on the number of relapses of the disease, medical treatment and morphological types. The serum and urinary concentration of IL-13 were determined by ELISA.

Results. The significant increase in IL-13 in serum and urine of patients in the acute phase of the disease, compared to healthy subjects, was shown. In remission its level was significantly reduced, but still remained higher than in the control group. Regardless of the stage of the disease, the concentration of IL-13 in the urine of patients with the first relapse of INS was significantly lower than in children with recurrent INS or requiring immunosuppressive therapy. Serum level of IL-13 was not different between these groups. In all histopathological types of INS, IL-13 in serum and urine were similar.

Conclusions. Increased concentration of IL-13 in serum and urine of children with INS in the acute phase of the disease, and significant decrease in remission, indicate its role in the pathogenesis. Higher levels of IL-13 in the urine of patients with recurrent INS and requiring immunosuppressive therapy suggest the usefulness of this parameter as a prognostic marker. IL-13 in serum and urine does not allow one to distinguish between the morphological types of INS.

Key words: children, interleukin 13, idiopathic nephrotic syndrome.

Fam Med Prim Care Rev 2016; 18(2): 149–154

Wstęp

Idiopatyczny zespół nerczykowy (IZN) jest najczęstszą postacią zespołu nerczykowego u dzieci. Kryterium jego rozpoznania stanowią: białkomocz powyżej 50 mg/kg/dobę, hypoalbuminemia (< 2,5 g/l) i hipercholesterolemia (> 250 mg/dl), najczęściej z towarzyszącymi obrzękami [1, 2]. U morfologicznych podstaw tego zespołu leżą zmiany minimalne (*minimal change disease* – MCD), rzadziej roz-

plem mezangium (*mesangial glomerulonephritis* – MGN) lub segmentalne ogniskowe szklwienie kłębuszków (*focal segmental glomerulosclerosis* – FSGS). Powyższe patologie według ogólnie przyjętej koncepcji to okresy tego samego procesu chorobowego, którego istotą jest uszkodzenie podocytów [3]. IZN ma charakter nawrotowy. Zdecydowana większość pacjentów (ponad 90%) dobrze odpowiada na glikokortykosteroidy (GKS), u około 10% obserwuje się steroidooporność pierwotną, co rokuje gorzej w odniesieniu



do przeżycia narządu. Patogeneza IZN, pomimo wielu badań, nie została do końca wyjaśniona.

Już w latach 70. XX wieku przedstawiono hipotezę, że za rozwój zmian o typie MCD odpowiedzialne są krążące czynniki przepuszczalności białka, uwolnione przez limfocyty T [4]. Dalsze badania zmierzały do wykrycia tych hipotetycznych substancji, zwłaszcza cytokin. Podkreślano m.in. związek zaburzeń równowagi między subpopulacjami limfocytów Th₁/Th₂, z przewagą ekspresji cytokin uwalnianych przez Th₂ (IL-4 i IL-10, IL-13). Z kolei uzyskanie remisji w opornym na GKS IZN po zastosowaniu rituximabu – monoklonalnego przeciwciała przeciw CD-19 – wskazywało na udział limfocytów B w jego rozwoju [5]. Prawdopodobnie ma to związek z nadekspresją IL-13, która pobudza aktywność tej linii limfocytów do produkcji immunoglobuliny (IgE?), toksycznej działającej na podocyty. W 2011 r. stworzono hipotezę, w myśl której do rozwoju MCD niezbędne są „dwa uderzenia” [6]. Pierwsze polega na stymulacji podocyta przez T-zależne cytokiny, fragmenty bakteryjne, wirusowe oraz alergeny, w wyniku czego nabywają one właściwości komórek prezentujących antygen z ekspresją białka CD80. Indukcja CD80 prowadzi do zmian strukturalnych podocyta ze zwiększeniem przepuszczalności dla białka. Przy sprawnej funkcjonującej komórce T-regulatorowych (T-reg) i zachowanej autoregulacyjnej funkcji podocyta wydzielane przez T-reg cytokiny oraz/lub cząsteczki CTLA-4 i IL-10 uwalniane przez podocyty zapobiegają nadekspresji CD80 i przemijającej proteinurii [7]. Jeśli te mechanizmy zawodzą, dochodzi do permanentnej ekspresji CD80, a w konsekwencji do pełnoobjawowego MCD [8, 9].

Interleukina 13 (IL-13) jest jedną z cytokin regulujących swoistą odpowiedź immunologiczną, wydzielaną przez aktywne limfocyty Th₂. Działa przeciwzapalnie i – jak już wspomniano – pobudza proliferację limfocytów B oraz stymuluje je do produkcji IgE i IgG4. Przypuszcza się, że przez wpływ na monocyty powoduje wzrost produkcji czynnika przepuszczalności naczyń – VPF (*vascular permeability factor*), który także jest brany pod uwagę jako czynnik patogenetyczny IZN [10]. W badaniach na modelach zwierzęcych wykazano również, że u szczurów transfekowanych IL-13 rozwijają się zmiany o typie MCD z pełnoobjawowym ZN, ze zmniejszeniem ekspresji podocyta i nefryny, a wzrostem ekspresji CD80 [11].

Dotychczas brak jest doniesień, które w sposób kompleksowy ujmowałyby problem dotyczący IL-13 u dzieci z IZN. Podkreślić również należy fakt, że wydalanie IL-13 z moczem u dzieci z IZN nie było do tej pory przedmiotem badań.

Cel pracy

Celem pracy była ocena stężenia IL-13 w surowicy i w moczu u dzieci z IZN jako czynnika patogenetycznego oraz ocena jej przydatności jako markera przebiegu choroby.

Materiał i metody

Badaniami objęto 69 dzieci, w tym 51 dzieci z IZN, 19 dziewczynek i 32 chłopców, w przedziale wiekowym od 1,25 do 18 lat (średnia wieku 8,86 ± 5,2 lat). Rozpoznanie IZN ustalono według kryteriów ISKDC z 1978 r. [1]. Sterydotwrażliwość definiowano jako uzyskanie remisji w czasie pierwszych 4 tygodni leczenia wstępnego. Za remisję choroby uznano brak białka w moczu przez co najmniej 3 następujące po sobie dni. Zgodnie z założeniem pracy chorych podzielono dodatkowo na 2 podgrupy w zależności od tego, czy białkomocz nerczycowy wystąpił po raz pierwszy, czy był to nawrót choroby (od 2 do 16 nawrotów, średnio – 11,8). Do grupy I włączono 20 pacjentów z pierwszym rzutem choroby (5K/15M, średnia wieku 5,9 lat), do grupy II – 31 chorych z kolejnymi nawrotami IZN (14 K/17M, średnia wieku 10,6 lat). W zależności od stosowanego leczenia chorych podzielono na kolejne 2 grupy. Grupę A stanowiło 26 dzieci (7K/19M, średnia wieku 5,59 lat) leczonych wyłącznie GKS – w fazie rzutu stosowano u nich standardowe dawki prednisonu (2 mg/kg/dobę), w pojedynczych przypadkach stosowane były także pulsy z Solu Medrolu. Do grupy B włączono 22 dzieci (9K/13M, średnia wieku 12,52 lat) leczonych lekami immunosupresyjnymi (cyklosporyna, mykofenolan mofetylu).

U 18 dzieci wykonano biopsję nerki: MCD stwierdzono u 3 dzieci, FSGS – u 7 pacjentów, u 8 rozpoznano MGN. Do grupy dzieci z MCD włączono 15 dzieci z I rzutem IZN, u których obserwowano bardzo dobrą odpowiedź terapeutyczną po włączeniu GKS. Ten fakt pozwalał bowiem przypuszczać, że podłożem patomorfologicznym jest MCD [12]. Zgodnie z obowiązującymi rekomendacjami w takich przypadkach nie wykonuje się biopsji nerki [13].

U wszystkich pacjentów z IZN parametry stanu zapalnego były ujemne, a funkcja nerek prawidłowa.

Grupę kontrolną stanowiło 18 dzieci, 12 dziewczynek i 6 chłopców, w wieku od 2 do 15,5 lat (średnia: 8,40 ± 3,87 lat), diagnozowanych w Klinice z powodu moczenia nocnego lub podejrzenia wady układu moczowego, którą ostatecznie wykluczono.

U wszystkich badanych dzieci oceniano: surowicze stężenie albumin i cholesterolu oraz białkomocz w oparciu o współczynnik białkowo/kreatyninowy z porannej porcji moczu. Wartość > 2 (2000 mg/g kreatyniny) upoważnia do rozpoznania zespołu nerczycowego [2]. Przesączanie kłębuszkowe (*estimated glomerular filtration rate* – eGFR) oceniano w oparciu o skorygowany współczynnik 0,413 według formuły Schwartz’a [14]:

$eGFR (ml/min/1,73 m^2 p.c.) = 0,413 \times \text{wzrost (w cm)} / \text{stężenie kreatyniny w surowicy (mg/dl)}$. U wszystkich badanych dzieci z grupy kontrolnej stężenia albumin, cholesterolu całkowitego w surowicy, eGFR były prawidłowe, podobnie jak badanie ogólne moczu. Szczegółowe dane dotyczące dzieci z IZN przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Charakterystyka wybranych parametrów biochemicznych u dzieci z IZN z podziałem na grupy

Grupa	Parametr	Albuminy (g/l) X + SD M (25Q–75Q) min–maks	Cholesterol (mg/dl) X + SD M (25Q–75Q) min–maks	Białko/kreatynina X + SD M (25Q–75Q) min–maks
Dzieci z IZN N = 51		1,98 ± 1,01 1,90 (1,05–2,55) 0,30–4,20	398 ± 179,4 363,0 (268,0–475,0) 142,0–877,0	10,3 ± 11,8 6,2 (3,0–10,6) 0,3–55,4
Grupa I I rzut IZN N = 20		1,73 ± 0,61 1,70 (1,40–2,20) 0,70–3,10	393,0 ± 105,4 372,0 (297,0–464,0) 235,0–650,0	7,16 ± 6,79 4,85 (2,40–7,90) 1,17–25,16

Tabela 1. Charakterystyka wybranych parametrów biochemicznych u dzieci z IZN z podziałem na grupy

Grupa	Parametr	Albuminy (g/l) X + SD M (25Q–75Q) min–maks	Cholesterol (mg/dl) X + SD M (25Q–75Q) min–maks	Białko/kreatynina X + SD M (25Q–75Q) min–maks
Grupa II Kolejne rzuty IZN N = 31		2,14 ± 1,15 2,40 (1,00–3,10) 0,30–4,20	400,8 ± 211,1 329,5 (238,0–601,0) 142,0–877,0	11,7 ± 13,6 7,0 (3,9–10,7) 0,3–55,4
Grupa A IZN (GKS) N = 26		1,95 ± 0,98 1,90 (1,10–2,50) 0,40–4,20	365,9 ± 126,6 366,5 (286,5–442,5) 142,0–650,0	8,42 ± 11,46 4,71 (2,58–7,76) 0,27–55,4
Grupa B IZN (GKS+IS) N = 22		2,00 ± 1,05 2,0 (1,00–2,50) 0,3–4,00	435 ± 221,7 329,5 (264,0–636,0) 204,0–877,0	14,1 ± 13,4 9,6 (6,2–19,2) 0,3–40,7

Tabela 2. Stężenie IL-13 w surowicy i w moczu u wszystkich dzieci z IZN, w ostrym okresie choroby oraz w remisji w porównaniu z grupą kontrolną

Parametr	Grupa	Rzut IZN N = 51 X + SD M (25Q–75Q) min–maks	Remisja IZN N = 35 X + SD M (25Q–75Q) min–maks	Grupa kontrolna N = 18 X + SD M (25Q–75Q) min–maks
sIL-13 (pg/ml)		216,6 ± 18,6 * & 214,7 (205,9–229,3) 151,6–255,2	152,8 ± 12,3 & 154,1 (141,9–163,9) 132,9–172,4	113,4 ± 4,7 114,3 (111,1–116,8) 104,8–120,6
uIL-13 (pg/ml)		69,7 ± 11,4 # & 70,1 (63,1–78,8) 41,0–87,6	29,2 ± 4,6 & 29,3 (25,3–33,0) 21,1–37,1	12,4 ± 1,0 12,5 (11,9–13,2) 10,6–14,0

* – rzut IZN vs remisja IZN (surowica), $p = 0,00000$ (test Wilcoxon),

– rzut IZN vs remisja IZN (mocz), $p = 0,00000$,

& – rzut IZN vs grupa kontrolna oraz remisja vs grupa kontrolna (surowica i mocz), $p = 0,00000$.

Krew i mocz do badań u dzieci z grupy kontrolnej pobierano jednorazowo, u dzieci z IZN dwukrotnie: w fazie ostrej oraz w remisji. Krew pobierano rano na czczo na skrzep. Surowicę zamrażano w temperaturze -70°C i przechowywano do czasu wykonania oznaczeń.

Stężenia IL-13 w surowicy (sIL-13) i w moczu (uIL-13) oznaczano metodą ELISA przy użyciu komercyjnych testów, zgodnie z instrukcją producenta (R&D Systems). Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (Nr KB-199/2009) oraz rodziców dziecka, a w przypadku pacjentów powyżej 16. roku życia – również zgodę chorego.

Metody statystyczne

Dane badanych parametrów ciągłych obejmowały: wartość średnią (X), medianę (M), kwartyle (25Q–75Q), zakres (min–maks) i odchylenie standardowe (SD).

Weryfikację hipotezy o równości średnich parametrów w grupach przeprowadzono ze względu na małą liczbę przypadków, testem nieparametrycznym sumy rang Kruskala-Wallis. Weryfikację hipotezy o równości średnich parametrów w próbkach zależnych (np. rzut–remisja) przeprowadzono testem nieparametrycznym kolejności par Wilcoxon. Dla wybranych par parametrów przeprowadzono analizę korelacji Pearsona wyliczając współczynnik korelacji r , $p \leq 0,05$ uznawano za znaczące statystycznie. Analizę statystyczną przeprowadzono wykorzystując komputerowy pakiet programów statystycznych EPIINFO ver. 7.1.1.14 (z dnia 02.07.2013 r.).

Wyniki

Stwierdzono istotny wzrost stężeń IL-13 w surowicy i moczu dzieci z IZN, zarówno w ostrej fazie choroby, jak i w remisji, w porównaniu do dzieci z grupy kontrolnej. W okresie białkomoczu nerczykowego wzrost ten był znacząco wyższy niż w fazie remisji (tab. 2).

Analizując wpływ liczby nawrotów IZN na stężenia IL-13 w surowicy i w moczu, nie wykazano istotnych różnic w odniesieniu do wartości w surowicy, zarówno w fazie rzutu, jak i w remisji. Stwierdzono natomiast znacząco wyższe wartości IL-13 wydalanej z moczem dzieci z kolejnym rzutem IZN w porównaniu do wartości obserwowanych w grupie dzieci z pierwszym epizodem IZN, niezależnie od fazy choroby (tab. 3).

Przeprowadzona analiza surowiczych stężeń IL-13 w grupach dzieci, podzielonych w zależności od stosowanego leczenia, nie wykazała istotnych różnic, zarówno w fazie rzutu, jak i w remisji IZN. Natomiast stężenie IL-13 w moczu było istotnie statystycznie niższe w remisji u dzieci leczonych wyłącznie GKS (tab. 4).

Porównując wartości stężeń IL-13 w surowicy i w moczu dzieci z IZN, w zależności od rozpoznania histopatologicznego, nie wykazano istotnych różnic, niezależnie od okresu choroby (tab. 5).

Badania korelacyjne przeprowadzone w całej grupie dzieci z IZN w okresie rzutu choroby nie wykazały związku między stężeniem IL-13 w surowicy i w moczu a stężeniem CRP, albuminy, cholesterolu całkowitego i nasileniem białkomoczu. Wykazano tendencję do ujemnej ko-

relacji między stężeniem cholesterolu a stężeniem IL-13 w moczu w grupie dzieci z kolejnym rzutem IZN ($r = -0,34$; $p = 0,074$). Podobną tendencję do ujemnej korelacji ze stę-

żeniem cholesterolu stwierdzono w fazie rzutu w grupie dzieci leczonych steroidami i innymi lekami immunosupresyjnymi ($r = -0,38$; $p = 0,090$).

Tabela 3. Stężenie IL-13 w surowicy i w moczu w rzucie i w remisji IZN u dzieci z pierwszym (grupa I) i kolejnym nawrotem choroby (grupa II)

Parametr	Grupa I rzut N = 20 X + SD M (25Q–75Q) min–maks	Grupa II rzut N = 31 X + SD M (25Q–75Q) min–maks	Grupa I remisja N = 9 M (25Q–75Q) min–maks	Grupa II remisja N = 26 X + SD M (25Q–75Q) min–maks
sIL-13 (pg/ml)	219,2 ± 16,6 217,7 (203,0–232,2) 197,0–252,3	214,9 ± 20,4 214,7 (205,9–225,0) 151,6–255,2	145,4 (139,1–160,8) 132,9–167,0	154,2 ± 11,9 155,9 (145,0–163,9) 132,9–172,4
uIL-13 (pg/ml)	66,3 ± 11,2 * 66,6 (57,7–71,8) 48,6–87,6	71,8 ± 11,2 72,1 (66,6–80,9) 41,0–87,3	23,2 (22,0–29,3)# 21,1–33,3	30,4 ± 3,8 29,4 (28,4–33,0) 23,1–37,1

* – faza rzutu: grupa I vs grupa II, $p = 0,0475$,

– faza remisji: grupa I vs grupa II, $p = 0,0181$.

Tabela 4. Stężenie IL-13 w surowicy i w moczu w rzucie i w remisji IZN u dzieci leczonych wyłącznie GKS (grupa A) i dzieci leczonych GKS oraz dodatkowymi lekami immunosupresyjnym (grupa B)

Parametr	Grupa A rzut N = 26 X + SD M (25Q–75Q) min–maks	Grupa B rzut N = 22 X + SD M (25Q–75Q) min–maks	Grupa A remisja N = 17 X + SD M (25Q–75Q) min–maks	Grupa B remisja N = 17 X + SD M (25Q–75Q) min–maks
sIL-13 (pg/ml)	217,5 ± 21,7 214,7 (205,9–229,3) 151,6–255,2	214,5 ± 16,0 215,0 (205,9–223,5) 170,0–250,6	150,2 ± 12,9 148,5 (139,1–160,8) 132,9–169,4	154,6 ± 11,4 154,4 (145,0–163,4) 136,0–172,4
uIL-13 (pg/ml)	69,1 ± 11,9 68,3 (63,1–77,6) 41,0–87,6	71,9 ± 10,6 71,4 (66,6–80,9) 41,0–85,4	27,4 ± 4,4* 27,3 (25,3–29,3) 21,1–36,3	31,4 ± 3,6 31,3 (29,2–34,1) 23,1–37,1

* – faza remisji: grupa A vs grupa B, $p = 0,0111$.

Tabela 5. Analiza wartości stężenia IL-13 w surowicy oraz w moczu w fazie rzutu oraz w fazie remisji IZN z uwzględnieniem rozpoznania histopatologicznego biopsji nerki u dzieci z IZN

Wynik biopsji nerki	MCD	MGN	FSGS	Test Kruskala-Wallis
Parametr	N X ± SD M (25Q–75Q) min–maks	N M (25Q–75Q) min–maks	N M (25Q–75Q) min–maks	
sIL-13 (pg/ml) Faza rzutu	N = 18 218,9 ± 16,4 215,7 (203,0–229,3) 197,0–252,3	N = 8 222,9 (208,2–231,6) 204,9–239,6	N = 7 207,7 (200,0–231,0) 170,0–235,1	NS
uIL-13 (pg/ml) Faza rzutu	N = 18 69,9 ± 11,0 68,3 (63,1–80,5) 52,2–87,6	N = 8 72,5 (68,3–80,9) 65,3–83,9	N = 7 68,7 (52,2–72,1) 41,0–78,8	NS
sIL-13 (pg/ml) Faza remisji	N = 11 148,3 ± 13,5 145,4 (136,0–167,0) 132,9–169,4	N = 6 152,6 (151,1–160,4) 135,7–160,8	N = 5 157,4 (154,4–167,0) 145,0–172,4	NS
uIL-13 (pg/ml) Faza remisji	N = 11 28,6 ± 4,8 29,3 (25,3–33,3) 21,1–34,9	N = 6 28,2 (27,1–29,5) 22,0–31,0	N = 5 28,4 (23,1–29,6) 22,4–33,0	NS

Dyskusja

Wyniki prowadzonych od lat 70. ubiegłego wieku badań dowodzą, że patogenezę IZN jest niezwykle złożona, a wśród licznych czynników rola IL-13 wydaje się być bardzo istotna. Przemawiają za tym przeprowadzone przez Lai i wsp. [11] eksperymenty na szczurach transfekowanych ekstrahowanymi, pozyskanymi z *E. coli*, plazmidami DNA zawierającymi geny dla IL-13, powodującymi nadekspresję mRNA IL-13. Autorzy wykazali, że wzrostowi surowiczego stężenia IL-13 w 30., 60. i 70. dniu obserwacji towarzyszył wzrost albuminurii od 14. dnia, ze szczytowymi wartościami w 70. dniu eksperymentu. U prawie 1/5 populacji szczurów rozwinął się pełny zespół nerczycowy. Fakt, iż zespół nerczycowy nie wystąpił w całej populacji przemawia za sprawnie działającymi mechanizmami autoregulacyjnymi podocyta, zgodnie z hipotezą „dwóch uderzeń”.

Badacze wykazali natomiast, że wśród szczurów z rozwiniętym ZN zmniejszyła się ekspresja genów dla białek związanych z podocytym, tj. podocyny, nefryny i dystroglikanu, a wzrosła ekspresja B7-1 (CD80); wzrost ten korelował dodatnio ze stężeniem IL-13 w surowicy. W ocenie histologicznej biopatów nerki w mikroskopie świetlnym nie opisano zmian w kłębuszkach nerkowych. W mikroskopie elektronowym stwierdzono natomiast zlanie się wyrostków stopowatych podocytów, z nasileniem zmian w przypadku objawowego ZN.

Bezpośredni wpływ IL-13 na podocyty sugeruje również występowanie MCD w powiązaniu z chorobą Hodgkina. Wykazano bowiem zwiększoną ekspresję tej cytokiny, zarówno w komórkach Reed-Sternberga, jak i w innych liniach komórkowych, pobranych z materiału biopsyjnego [15, 16].

Badania własne potwierdzają powyższe obserwacje, istotnie wyższe stężenia IL-13 w surowicy i w moczu u dzieci z IZN wykazano w ostrej fazie choroby, przed włączeniem GKS, w porównaniu z grupą kontrolną. W fazie remisji wartości te obniżały się znacząco w odniesieniu do okresu ostrego, choć wciąż były wyższe niż u dzieci zdrowych. Spostrzeżenia te są zgodne z doniesieniami Taina i wsp. którzy analizowali stężenie IL-13 w surowicy dzieci ze steroidowrażliwym IZN (*steroid sensitive nephrotic syndrome* – SSNS), ale tylko w odniesieniu do ostrej fazy, przed włączeniem GKS. Autorzy wykazali bowiem wyższe stężenia tej cytokiny po 4 tygodniach leczenia, a więc w okresie remisji. Tego zjawiska nie obserwowali w grupie dzieci ze steroidoopornym IZN, u których stężenia sIL-13 były podobne, niezależnie od okresu choroby [17]. Nasze obserwacje są natomiast całkowicie zbieżne ze spostrzeżeniami Mishra i wsp. [18], którzy badali 40 dzieci z IZN, zarówno w pierwszym, jak i w kolejnych rzutach choroby. Wykazali ponadto wzrost surowicznych stężeń IgE oraz jej dodatnią korelację z IL-13, niezależnie od tego, czy pacjenci byli dodatkowo obciążeni chorobą o podłożu atopowym. Wyszuli więc wnioski, że wzrost stężenia IgE u pacjentów z IZN jest wynikiem nadekspresji IL-13 w ogólnoustrojowej reakcji m.in. na bodźce wirusowe, a nie wyrazem atopowego tła IZN. Podobne stanowisko zajęli również Cheung i wsp. Wykazali oni, że u dzieci z IZN, odpowiadających na leczenie GKS, zarówno przy współistnieniu atopii lub bez niej, odsetek limfocytów CD3⁺ produkujących IL-13 oraz stężenie IgE jest wyższe w fazie rzutu ZN w porównaniu z fazą remisji. Niezależnie od tego, czy dzieci stosowały GKS przed nawrotem IZN lub dopiero w chwili jego wystąpienia, w obu grupach obserwowano zwiększoną ekspresję komórek CD3⁺ w ostrej fazie choroby [19]. Najnowsze publikacje obalają również pogląd o znaczącej roli atopii w rozwoju IZN [20].

Autorzy chińscy oceniali dynamikę stężenia IL-13 w surowicy oraz ekspresję mRNA IL-13 w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej u 28 dzieci z SSNS, u których

zastosowano puls z metyloprednizolonu. Powyższe parametry analizowano przed włączeniem leku, następnie po 2 i 5 dniach leczenia oraz po 2 tygodniach od uzyskania remisji. Stwierdzono, że stężenia IL-13 i ekspresja mRNA IL-13 były znacząco podwyższone jeszcze przed włączeniem GKS w porównaniu z grupą kontrolną i ulegały stopniowej redukcji w trakcie leczenia, normalizując się dopiero po 2 tygodniach od uzyskania remisji [21]. Wyniki badań własnych potwierdzają te obserwacje w odniesieniu do ostrej fazy choroby. Podkreślić jednak należy, że dokonana przez nas ocena wykonywana była tuż po osiągnięciu remisji. Wydaje się więc, że proces całkowitej normalizacji wymaga nieco dłuższego czasu.

Uwzględniając podział naszych pacjentów w zależności od liczby nawrotów (I rzut vs kolejne nawroty ZN, leczone GKS) wykazano, że stężenie IL-13 w surowicy w fazie rzutu i w remisji nie różnicuje tych grup. Modyfikacja terapii wynikająca z obserwowanej u naszych chorych steroidoozależności lub steroidooporności, z zastosowaniem dodatkowych leków immunosupresyjnych, również nie miała wpływu na stężenie IL-13 w surowicy. Wykazano jednak, że długotrwała terapia GKS związana z kolejnymi nawrotami oraz włączenie leków immunosupresyjnych wpływa na wydalanie tej cytokiny z moczem. Jej stężenie w moczu było istotnie wyższe, zarówno w fazie nawrotu, jak i remisji, w porównaniu do pacjentów z I rzutem choroby. Niezmierzenie ciekawą obserwacją z klinicznego punktu widzenia jest spostrzeżenie, że zastosowanie dodatkowych leków immunosupresyjnych przekłada się na wyższe stężenia cytokiny w moczu w fazie remisji, w porównaniu z grupą dzieci leczonych wyłącznie GKS.

Dotychczas nie oceniono stężenia IL-13 u pacjentów z IZN w zależności od morfologicznego podłoża choroby. W badanej przez nas grupie nie wykazano znaczących różnic w stężeniu IL-13 w surowicy i moczu między dziećmi z rozpoznaniem MCD, MGN czy FSGS. Dotyczyło to zarówno ostrej fazy choroby, jak i remisji. Wobec powyższych obserwacji należy przypuszczać, że rola IL-13 nie ogranicza się jedynie tylko do rozwoju zmian o typie MCD. Być może utrzymujące się jej podwyższone stężenie w trakcie kolejnych nawrotów ZN wpływa na transformację zmian minimalnych w kłębuszkach nerkowych w kierunku rozplemu mezangium czy też ogniskowego szkliwienia. Należy jednak zaznaczyć, że w badanym materiale liczba pacjentów z rozpoznaniem MGN oraz FSGS była stosunkowo mała.

Mając na uwadze fakt wyższego wydalania IL-13 z moczem dzieci z kolejnymi rzutami choroby oraz u chorych wymagających włączenia dodatkowych leków immunosupresyjnych, można przypuszczać, że dynamika wzrostu stężenia tej cytokiny w moczu może odzwierciedlać zmiany zachodzące w kłębuszkach nerkowych i może być czynnikiem rokowniczym IZN.

Wobec powyższego interesujące wydaje się przeprowadzenie badania prospektywnego, dotyczącego analizy stężenia IL-13 w moczu u dzieci z IZN w określonych punktach czasowych choroby w powiązaniu z oceną dynamiki zmian w materiale biopsyjnym nerki.

Wnioski

1. Wzrost stężenia IL-13 w surowicy i w moczu dzieci z IZN w ostrym okresie choroby oraz jej znaczący spadek w okresie remisji przemawiają za istotną rolą tej cytokiny w patogenezie IZN.
2. Podwyższone stężenia IL-13 w surowicy i w moczu dzieci tuż po osiągnięciu remisji klinicznej IZN wskazuje na utrzymujące się pobudzenie układu immunologicznego i konieczność dalszego leczenia immunosupresyjnego.

3. Wyższe stężenie IL-13 w moczu pacjentów z kolejnymi nawrotami IZN oraz wymagających alternatywnego leczenia immunosupresyjnego może świadczyć o przydatności tego parametru jako wskaźnika rokowniczego.
4. Stężenie IL-13 w surowicy i w moczu nie pozwala na różnicowanie podłoża morfologicznego IZN u dzieci.

Źródło finansowania: Praca sfinansowana z grantu dla młodych naukowców (nr Pbm35) i sfinansowanego przez Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu.

Konflikt interesów: Autorki nie zgłaszają konfliktu interesów.

Piśmiennictwo

1. A report of the International Study of Kidney Disease in Children. Nephrotic syndrome in children: prediction of histopathology from clinical and laboratory characteristics at time of diagnosis. *Kidney Int* 1978; 13(2): 159–165.
2. Cattran DC, Feehally J, Cook HT, et al. Kidney disease: improving global outcomes (KDIGO) glomerulonephritis work group. KDIGO clinical practice guideline for glomerulonephritis. *Kidney Int Suppl* 2012; 2(2): 139–274.
3. Habib R. A story of glomerulopathies: a pathologist's experience. *Pediatr Nephrol* 1993; 7(4): 336–346.
4. Shalhoub RJ. Pathogenesis of lipoid nephrosis: a disorder of T-cell function. *Lancet* 1974; 2(7880): 556–560.
5. Kim JE, Park SJ, Ha TS, et al. Effect of rituximab in MCNS: a role for IL-13 suppression? *Nat Rev Nephrol* 2013; 9(9): 551
6. Reiser J, Mundel P. Danger signaling by glomerular podocytes defines a novel function of inducible B7-1 in the pathogenesis of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(9): 2246–2248.
7. Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, et al. CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science* 2008; 322(5899): 271–275.
8. Reiser J, von Gersdorff G, Loos M, et al. Induction of B7-1 in podocytes is associated with nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 2004; 113(10): 1390–1397.
9. Shimada M, Araya C, Rivard C, et al. Minimal change disease: a „two-hit” podocyte immune disorder? *Pediatr Nephrol* 2011; 26(4): 645–649.
10. Matsumoto K, Ohi H, Kanmatsuse K. Interleukin 10 and interleukin 13 synergize to inhibit vascular permeability factor release by peripheral blood mononuclear cells from patients with lipoid nephrosis. *Nephron* 1997; 77(2): 212–218.
11. Lai KW, Wei CL, Tan LK, et al. Overexpression of interleukin-13 induces minimal-change-like nephropathy in rats. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18(5): 1476–1485.
12. A Report of the International Study of Kidney Disease in Children. Primary nephrotic syndrome in children: clinical significance of histopathologic variants of minimal change and of diffuse mesangial hypercellularity. *Kidney Int* 1981; 20(6): 765–771.
13. Chapter 2: General principles in the management of glomerular disease. *Kidney Int Suppl* 2012; 2: 156–162.
14. Schwartz GJ, Muñoz A, Schneider MF, et al. New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20(3): 629–637.
15. Kapp U, Yeh WC, Patterson B, et al. Interleukin 13 is secreted by and stimulates the growth of Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *J Exp Med* 1999; 189(12): 1939–1946.
16. Skinnider BF, Kapp U, Mak TW. Interleukin 13: A growth factor in Hodgkin lymphoma. *Int Arch Allergy Immunol* 2001; 126(4): 267–276.
17. Tain YL, Chen TY, Yang KD. Implications of serum TNF-beta and IL-13 in the treatment response of childhood nephrotic syndrome. *Cytokine* 2003; 21(3): 155–159.
18. Mishra OP, Teli AS, Singh U, et al. Serum immunoglobulin E and interleukin-13 levels in children with idiopathic nephrotic syndrome. *J Trop Pediatr* 2014; 60(6): 467–471.
19. Cheung W, Wei CL, Seah CC, et al. Atopy, serum IgE, and interleukin-13 in steroid-responsive nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2004; 19(6): 627–632.
20. Yılmaz D, Yenigün A, Sönmez F, et al. Evaluation of children with steroid-sensitive nephrotic syndrome in terms of allergies. *Ren Fail* 2015; 37(3): 387–391, doi: 10.3109/0886022X.2014.996087.
21. Jiang HK, Jiang H, Luo G, et al. Interleukin-13 expression before and after pulse treatment with methylprednisolone in children with steroid-responsive nephrotic syndrome. *Chin J Contemp Pediatr* 2007; 9(6): 533–536.

Adres do korespondencji:

Lek. Agnieszka Pukajło-Marczyk
Katedra i Klinika Nefrologii Pediatricznej UM
ul. Borowska 213
50-556 Wrocław
Tel.: 509 153-125
E-mail: pukajlo@gmail.com

Praca wpłynęła do Redakcji: 25.03.2015 r.

Po recenzji: 11.04.2015 r.

Zaakceptowano do druku: 20.04.2015 r.