

ID: 2013-04-1276-A-2693

Оригинальная статья

Захарова Н.Б., Гражданов Р.А., Понукалин А.Н., Иноземцева Н.Д., Россоловский А.Н.

Диагностическое значение про- и противовоспалительных цитокинов в моче при обострении хронического калькулезного пиелонефрита

ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И.Разумовского Минздрава России, НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии

Zakharova N.B., Grazhdanov R.A., Ponukalin A.N., Inozemtseva N.D., Rossolovsky A.N.

Diagnostic value of pro-and anti-inflammatory cytokines in urine at an exacerbation of chronic calculous pyelonephritis

Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Fundamental and Clinical Urology

Резюме

В работе представлены результаты обследования пациентов с коралловидным нефролитиазом, осложненным латентным пиелонефритом и обострением хронического пиелонефрита. Установлено, что нарастание воспалительных изменений мочевыводящих путей сопровождается достоверным подъемом основных провоспалительных цитокинов в моче. Среди провоспалительных цитокинов наибольшую диагностическую чувствительность и специфичность имеет определение содержания в моче ИЛ-8.

Ключевые слова: мочекаменная болезнь, коралловидный нефролитиаз, пиелонефрит, про- и противовоспалительные цитокины, моча

Abstract

The study represents the results of examination of patients with the coral nephrolithiasis, complicated by latent pyelonephritis and exacerbation of a chronic pyelonephritis. It is determined, that the intensification of inflammatory changes of urinary tracts is followed by the believable increase of the main proinflammatory cytokines in urine. The value detection of IL-8 in urine has the highest diagnostic sensitivity and specificity among the proinflammatory cytokines.

Key words: urolithic disease, coral nephrolithiasis, pyelonephritis, pro-and anti-inflammatory cytokines, urine

Исследования клеточно-молекулярных механизмов, вызывающих развитие интерстициального воспаления и фиброза при мочекаменной болезни, раскрывает новые перспективы мониторинга активности воспалительных процессов в почечной паренхиме и для прогноза развития почечной недостаточности (3,4,5,6,12,13,20). Одним из подходов, позволяющих уточнить информативность лабораторных показателей для мониторинга фиброгенеза в интерстиции почки, установить их ценность как критериев прогноза заболевания, является сопоставление результатов морфометрического исследования паренхимы почек при калькулезном пиелонефрите (КПН) с изменением уровня биомаркеров в моче. (1, 2,4,5,7,8,9,10,12).

Целью исследования явилось подтвердить возможность оценки выраженности воспаления и фиброза тубулоинтерстиция по результатам определения основных про- и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-1 α , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10) в моче у больных мочекаменной болезнью, осложненной пиелонефритом.

При проведении исследования всего было обследовано 115 человек. Среди них: 30 практически здоровых лиц в возрасте от 25 до 45 лет, 15 мужчин и 15 женщин, составивших контрольную группу; 70 пациентов, проходивших лечение в НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им.В.И. Разумовского Росздрава, имели характерную клиническую картину КН, осложненной латентным пиелонефритом и с обострением хронического пиелонефрита.

Оценку активности воспалительного процесса у больных КПН проводили по результатам комплексного обследования. В него входило изучение жалоб и сбор анамнеза, лабораторные анализы, обзорная рентгенография почек и мочевых путей, экскреторная урография, ультразвуковое исследование (УЗИ), динамическая нефросцинтиграфия, пошаговая, спиральная и мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) с реконструкцией изображения, магнитно-резонансная томография (МРТ).

Наряду с общепринятыми клинико-лабораторными методами обследования больных КПН проводили исследование в моче содержания провоспалительных цитокинов. Для определения молекулярных маркеров в моче осуществляли сбор утренней, первой порции мочи в специальные стерильные пластиковые стаканы с крышками для сбора мочи. Определение содержания основных про- и противовоспалительных цитокинов интерлейкинов- 1 β , -6, -8, -10 (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10) в моче проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реактивов фирм Вектор-Бест (Новосибирск, РФ). Результаты выражали в пг/мл.

Для оценки диагностической чувствительности и специфичности анализа вышеперечисленных биомаркеров использовали ROC-анализ. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета Statistica 6.1. В качестве критерия достоверности отличия между двумя независимыми группами использовали непараметрический критерий (U) Манна-Уитни. Во всех процедурах статистического анализа принимался уровень значимости $p < 0,05$.

Одной из наиболее значимых характеристик поражения паренхимы почек у больных КН и пиелонефритом может быть отнесено нарастание содержания основной группы провоспалительных цитокинов в моче. Сопоставление результатов количественного определения содержания провоспалительных цитокинов в моче с результатами морфологического и морфометрического исследования биоптатов больных КН показало, что подъем их уровня можно считать одну из характеристик

воспалительного процесса в мочевыводящих путях (табл. 1, рис. 1). Нарастание содержания в моче провоспалительных цитокинов у больных с обострением калькулезного пиелонефрита сопровождалось увеличением количества воспалительных инфильтратов в паренхиме почек и степени повреждения эпителиальной выстилки мочевых канальцев. Подъем уровня провоспалительных цитокинов в моче можно считать следствием усиления их образования тубулярным эпителием. Внедрение патогенных микроорганизмов в мочевыводящие пути приводит к развитию иммунного ответа на уровне эпителиальной выстилки мочевыводящих путей. Его проявлением становится выброс таких провоспалительных цитокинов, как ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИЛ-8. Они вызывает инфильтрацию тканевых структур, окружающих мочевыводящие пути, макрофагами и лейкоцитами и становятся одними из активаторов дальнейшего развития тубулоинтерстициального воспаления.

Как видно из полученных данных наиболее значимым подъем содержания провоспалительных цитокинов в моче отмечен у больных КН с обострением калькулезного пиелонефрита у больных КН. У больных циститами и с латентной формой калькулезного пиелонефрита отмечено менее выраженный подъем в моче содержания провоспалительных цитокинов. Наиболее значительным у больных КН с латентной формой пиелонефрита и при его обострении был подъем содержания ИЛ-8 в моче. Содержание противовоспалительного цитокина Ил-10 в моче у больных КН не было связано с обострением хронического пиелонефрита.

Таблица 1. Цитокиновый профиль мочи больных хроническим калькулезным пиелонефритом и циститом

Группа обследованных	ИЛ18 (пг/мл)	ИЛ6 (пг/мл)	ИЛ8 (пг/мл)	ИЛ10 (пг/мл)
Контрольная группа	0,15 [0; 3,3]	2,7 [1,9; 8,7]	2,7 [0; 11,8]	13 [5,5; 17,5]
Больные с хроническим калькулезным пиелонефритом вне обострения	1,1 [0,2; 7,3] p>0,05*	9,4 [2; 24,5] p>0,05*	74,6 [23,5; 291,5] p>0,05*	18 [6; 37] p>0,05*
Больные с хроническим циститом	3,9 [0,9; 6,4] p=0,0004*	24,6 [16,5; 36,3] p=0,0008*	248 [165; 262,5] p<0,0001*	18 [14; 21,5] p>0,05*

Примечание: * по критерию Манна-Уитни (U) в сравнении с контрольной группой.

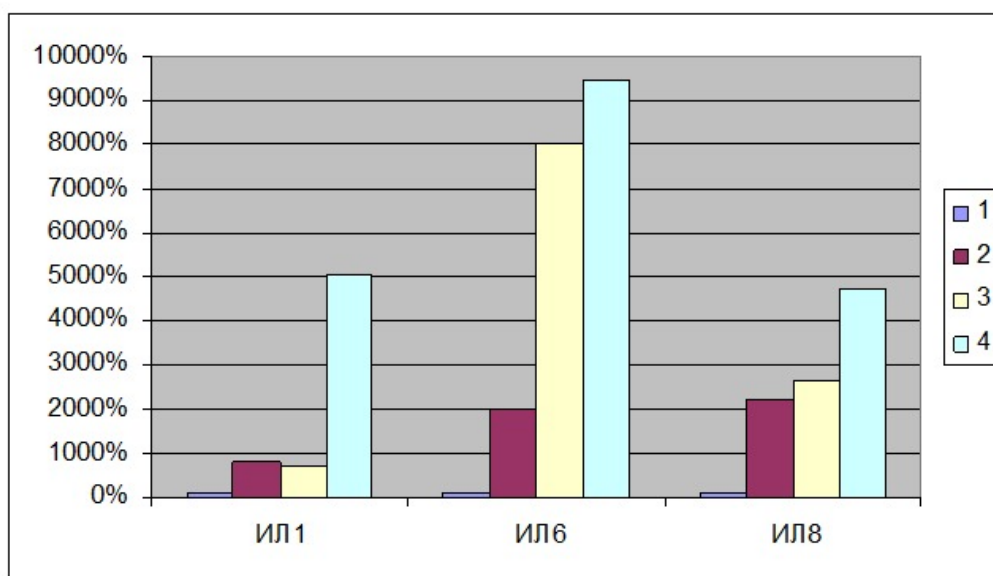


Рис. 1. Провоспалительные цитокины мочи в процентах от величины нормы у больных хроническими воспалительными заболеваниями мочевыводящих путей: 1 – контрольная группа; 2 – больные с циститом; 3 - больные с латентным хроническим пиелонефритом; 4 - больные с обострением хронического пиелонефрита.

Диагностическое значение исследования содержания провоспалительных цитокинов в моче при хроническом и остром калькулезном пиелонефрите по анализу чувствительности и специфичности оценивалась с помощью построения характеристической кривой (ROC-анализ) (рис. 2, 3).

Как видно, одной из значимых характеристик воспалительного процесса в мочевыделительной системе у больных с циститами и пиелонефритами является подъем содержания в моче ИЛ-1 β (чувствительность – 65-79%, специфичность – 60-95%), ИЛ-6 (чувствительность – 71-72%, специфичность – 65-92%), ИЛ-8 (чувствительность – 92-97%, специфичность – 90-99%). То есть наличие воспалительных изменений мочевыводящих путей сопровождается достоверным подъемом основных провоспалительных цитокинов в моче.

Среди провоспалительных цитокинов наибольшую диагностическую чувствительность и специфичность имеет определение содержания в моче ИЛ-8.

Увеличение содержания ИЛ-8 в моче до 16,15 пг/мл характеризует скрытую форму воспалительных изменений в мочевыводящих путях. Нарастание уровня ИЛ-8 выше 132,2 пг/мл подтверждает обострение калькулезного пиелонефрита у больных КН.

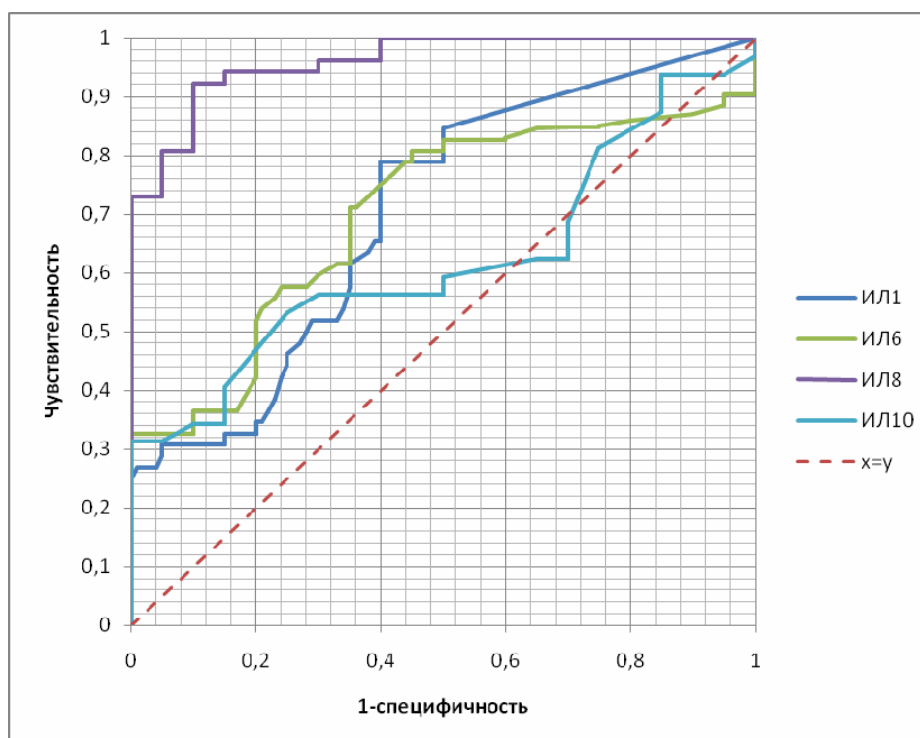


Рис. 2. ROC-кривые диагностической эффективности выявления калькулезного пиелонефрита у больных КН методом исследования цитокинового профиля мочи.

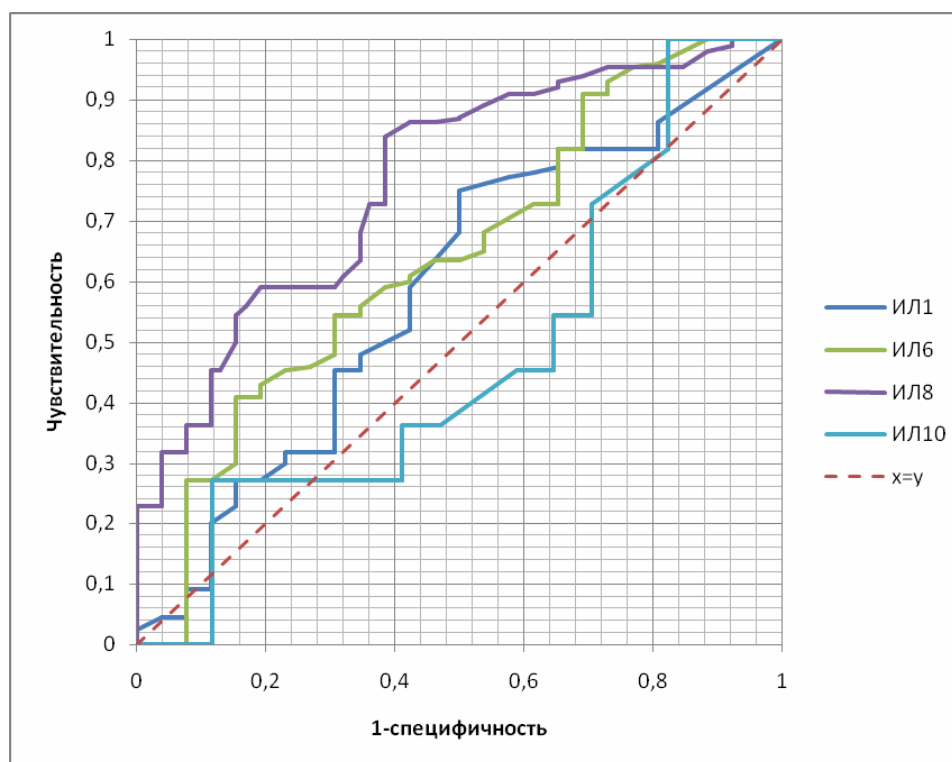


Рис. 3. ROC-кривые диагностической эффективности определения степени активности воспалительного процесса при калькулезном пиелонефрите у больных КН методом исследования цитокинового профиля мочи.

Литература

1. Вершинин А.Е., Бондаренко В.М., Перепанова Т.С., Лавринова Л.Н. Алгоритм лабораторной диагностики гнойно-воспалительных заболеваний мочеполовых путей // Клинико-лабораторная диагностика.- 2005.- № 9.- С.29-15.
2. Лопаткин Н.А., Яненко Э.К. Мочекаменная болезнь // Русский медицинский журнал. - 2000. - № 3. -С. 24-32.
3. Мухин Н.А., Аляев Ю.Г., Козловская Л.В., Кочетков Д.В. Нефрологические маски урологических заболеваний. В кн. Материалы Научно-практической конференции посвященной 55-летию поликлиники РАН. М.: Наука.- 2001. – С. 91–92.
4. Мухин Н.А., Тареева И.Е., Шилов Е.М. Диагностика и лечение болезней почек. М.: Геотар-Мед. – 2002. – 384 с.
5. Синюхин В.Н., Ковальчук Л.В., Чирун Н.В. Иммунологические аспекты острого пиелонефрита // Урология.- 2002.- (1).- С.24-26.

6. Тиктинский О.Л., Александров В.П. Мочекаменная болезнь. СПб.: Питер.- 2000.
7. A panel of urinary biomarkers to monitor reversibility of renal injury and a serum marker with improved potential to assess renal injury and serum marker with improved potential to assess renal function / J.S.Ozer [et al.] // *Nat Biotechnol.*-2010.-Vol.28.-P.486-494.
8. Edelstein C.L. Biomarkers of acute kidney injury. // *Adv Chronic Kidney Dis.* 2008 Jul.- 15.-Vol. 3.- P.222-34.
9. Grabe M. (chairman), Bjerklund-Johansen T.E., Botto H., et al. Guidelines on Urological Infections of EAU, 2012.- P. 8-10.
10. Chon C.H., Lai F.C., Shortliffe L.M. Pediatric urinary tract infections // *Pediatr. Clin. N. Am.* 2001. 48:1441-1459.
11. Dommergues M., Muller F., Ngo S. et al. Fetal serum b2-microglobulin predict postnatal renal function in bilateral uropathies // *Kidney Int.*- 2000.- Vol.58.-P. 312-316.
12. Taha A.S. Urinalysis for interleukin-8 in the non-invasive diagnosis of acute and chronic inflammatory diseases // *Postgrad Med.J.*-2003.- Vol.79.-P.159-1.
13. Gianfrancesco F., Esposito T. Multifactorial disorder: molecular and evolutionary insights of uric acid nephrolithiasis // *Minerva Med.* -2005.-Vol. 96 (6) - P. 409-416.
14. Sadeghi M., Daniel V., Schnitzler P., Lahdou I., Naujokat C., Zeier M., Opelz G. Urinary proinflammatory cytokine response in renal transplant recipients with polyomavirus BK viruria // *Transplantation.* -2009.- Nov 15.- 88(9). -P. 1109-16.
15. Vaidya B.C., Feguson M.A., Bonventre S. Biomarkers of acute kidney injury // *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* -2008.- Vol.48.- P.463-93.
16. Wong W., Singh A.K. Urinary cytokines: clinically useful markers of chronic renal disease progression? *Current Opinion in nephrology and hypertension.*- 2001.- Vol. 6.-P. 807-811.
17. Ko Y.C., Mukaida N., Ishiyama S., Tokue A., Kawai T., Matsushima K., Kasahara T. Elevated interleukin-8 levels in the urine of patients with urinary tract infections // *Infect Immun.*- 1993.- Apr;61(4). - P.1307-14.
18. Tikhonov I., Rebenok A., Chyzh A. A study of interleukin-8 and defensins in urine and plasma of patients with pyelonephritis and glomerulonephritis // *Nephrol Dial Transplant.*- 1997.- Dec.12(12). - P.2557-61.
19. Horcajada J.P., Velasco M., Filella X., et al. Evaluation of inflammatory and renal-injury markers in women treated with antibiotics for acute pyelonephritis caused by *Escherichia coli* // *Clin Diagn Lab Immunol.*- 2004.- Vol. 11. Iss. 1. P. 1.