

Глыбочко П.В.<sup>1</sup>, Захарова Н.Б.<sup>2</sup>, Понукалин А.Н.<sup>2</sup>, Гражданов Р.А.<sup>2</sup>, Росоловский А.Н.<sup>2</sup>, Вараксин Н.А.<sup>3</sup>, Полозов А.Б.<sup>2</sup>, Блюмберг Б.И.<sup>2</sup>

## Значение подъема уровня провоспалительных цитокинов в моче при обострении хронического калькулезного пиелонефрита

1 - ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова, г. Москва; 2 - ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И.Разумовского Минсоцразвития России, г.Саратов; 3 - ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово

*Glybochko P.V., Zaharova N.B., Ponukalin A.N., Grazhdanov R.A., Rossolovsky A.N., Varaksin N.A., Polozov A.B., Bljumberg B.I.*

### Significance of Raise of Proinflammatory Cytokines Level in Urine at Acute Chronic Calculous Pyelonephritis

#### Резюме

Проведено исследование в моче содержания провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8) у 70 пациентов с коралловидным нефролитиазом, осложненным латентным пиелонефритом (25) и с обострением хронического пиелонефрита (45). В группе сравнения обследовано 15 пациентов с циститами, в контрольной группе - 30 практически здоровых лиц. Установлено, что у больных калькулезным пиелонефритом и циститами в моче имеет место значительный подъем содержания провоспалительных цитокинов. Наибольшую диагностическую чувствительность и специфичность для лабораторного подтверждения обострения калькулезного пиелонефрита имеет исследование содержания в моче ИЛ-8. **Ключевые слова:** хронический калькулезный пиелонефрит, моча, провоспалительные цитокины

#### Summary

Research is conducted in urine of the maintenance proinflammatory cytokines (IL-1  $\beta$ , IL-6, IL-8) at 70 patients with coralloid nephrolithiasis, the complicated latent pyelonephritis (25) and with an aggravation of a chronic pyelonephritis (45). In comparison group 15 patients with a cystitis, in control group - 30 practically healthy faces are surveyed. It is established that at patients calculous pyelonephritis and a cystitis in urine considerable lifting of the maintenance proinflammatory cytokines takes place. For laboratory acknowledgement of an aggravation calculous pyelonephritis maintenance research in urine IL-8 has the greatest diagnostic sensitivity and specificity.

**Keywords:** chronic calculous pyelonephritis, urine, proinflammatory cytokines

#### Введение

В целом ряде исследований последних лет показано, что воспалительные процессы (цистит, латентный пиелонефрит), сопровождающие хроническое течение калькулезного пиелонефрита приводят к развитию фиброзных изменений в тубулоинтерстиции почки и эндотелиальной дисфункции (1, 2). С увеличением числа обострений воспалительного процесса при хроническом калькулезном пиелонефрите ускоряется развитие и прогрессирование почечной недостаточности. Исследованиями последних лет определены диагностически значимые провоспалительные медиаторы, участвующие в формировании тубулоинтерстициальной недостаточности (3,4,5,6). Определенный пул провоспалительных цитокинов можно определять в моче, хотя подобного рода исследований выполнено недостаточно (6,7). Вместе с тем именно «мочевые те-

сты» будут способствовать появлению современных технологий ранней диагностики обострений воспалительного процесса при КПН, оценку его тяжести и прогнозировать развитие хронической почечной недостаточности (5,6,7,8). Это позволит уточнить показания к назначению как хирургического, так и терапевтического воздействия на больных КПН, дать надлежащее обоснование включения средств, целенаправленно воздействующих на активность выработки в почечной паренхиме молекул воспаления и фиброгенеза.

#### Материалы и методы

С целью повышения эффективности методов лабораторного подтверждения обострений хронического пиелонефрита у больных мочекаменной болезнью с одновременным прогнозированием начальных фаз тубулоин-

терстициального воспаления и повреждения почечной паренхимы было проведено изучение группы основных провоспалительных цитокинов - ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-8 – в моче. В исследование включено 115 человек. Среди обследованных :

- 30 практически здоровых лиц в возрасте от 25 до 45 лет, 15 мужчин и 15 женщин, составивших контрольную группу;

- 70 пациентов, проходивших обследование и лечение в НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии ГОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Росздрава, наблюдалась характерная клиническая картина коралловидного нефролитиаза на фоне латентного пиелонефрита ( 25 пациентов – 35,7%) и обострения хронического пиелонефрита (45 пациентов – 64,3%); - 15 пациентов с циститами вошли в группу сравнения.

Оценку активности и тяжести воспалительного процесса у больных КПП проводили в соответствии с результатам комплексного обследования данной группы пациентов. В него входило изучение жалоб и сбор анамнеза, лабораторные анализы, обзорная рентгенография почек и мочевых путей, экскреторная урография, ультразвуковое исследование, динамическая нефросцинтиграфия, пошаговая, спиральная и мультиспиральная компьютерная томография с реконструкцией изображения, магнитно-резонансная томография.

Наряду с общепринятыми клинико-лабораторными методами обследования больных КПП проводилось исследование в моче содержания провоспалительных цитокинов. Для определения молекулярных маркеров в моче осуществляли сбор утренней первой порции мочи в специальные стерильные пластиковые стаканы с крышка-

ми для сбора мочи. Определение содержания провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8) в моче проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов реактивов фирм Вектор-Бест (Новосибирск). Результаты выражали в нг/мл.

Для математического и статистического анализа полученных результатов использовались пакеты компьютерных программ Statistica v6.0 (StatSoft Inc.), SPSS 13.0 for Windows (SPSS Inc.), Microsoft Office Excel 2007, включавшую как параметрические, так и непараметрические методики (ранговый анализ вариаций Краскела-Уоллиса и медианный тест). По каждой группе указывали медиану, доверительный и межквартильный интервалы (для непараметрических показателей). Во всех процедурах статистического анализа принимался уровень значимости  $p < 0,05$ .

Анализ спектра чувствительности и специфичности в диапазоне исследованных значений цитокинов в моче проводили с помощью построения характеристической кривой (ROC-анализ). Диагностические уровни маркеров определялись исходя из максимальной суммы чувствительности и специфичности.

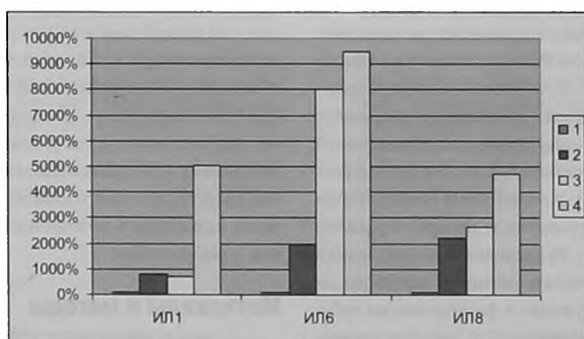
## Результаты и обсуждение

Результаты исследования содержания цитокинов в моче представлены в табл. 1 и на рис. 1.

Как видно из полученных данных наиболее значимым подъем содержания провоспалительных цитокинов в моче отмечен у больных с обострением калькулезного пиелонефрита. В моче содержание ИЛ-1 $\beta$  возросло в 50 раз, ИЛ-6 – в 95, ИЛ-8 – в 47 раз по сравнению с уровнем нормы.

**Таблица 1. Провоспалительный цитокиновый профиль мочи больных хроническими воспалительными заболеваниями мочевыводящих путей**

Группы обследованных лиц	ИЛ1 $\beta$ нг/мл	ИЛ6 нг/мл	ИЛ8 нг/мл
Контрольная группа	0,6 [0;2,4]	2,85 [2;7,7]	5,6 [2,1;9,]
Больные с латентным хроническим пиелонефритом	4,3 [2,8;14,5]*	228,6 [74,4;374,1]*	148,76 [61,05;180,6]*
Больные с обострением хронического пиелонефрита	30,2 [6,7;67,3]*	270,7 [194;291,7]*	264,61 [190,6;277]*
Группа сравнения – больные циститом	4,8 [0,6;106,4]*	56,9 [5,5;268,8]*	123,9 [234,4;1257,5]*



**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.**

Таблица 2. Уровни провоспалительных цитокинов в моче, рекомендуемые для выявления воспалительных заболеваний мочевыводящих путей.

Показатель	Хронический калькулезный Пиелонефрит	Хронический цистит
ИЛ1β	от 3,8 до 10,3 пг/мл (чувствительность 79%; специфичность 60%)	3,8-7,8 пг/мл (чувствительность 65%; специфичность 95%)
ИЛ6	6 до 24,9 пг/мл (чувствительность 71%; специфичность 65%)	6 - 33,3 пг/мл (чувствительность 72%; специфичность 95%)
ИЛ8	17,2 до 132,2 пг/мл (чувствительность 92%; специфичность 90%)	17,2 - 79,9 пг/мл (чувствительность 97%; специфичность 99%)

У больных циститами и с латентной формой калькулезного пиелонефрита отмечено менее значимое увеличение содержания провоспалительных цитокинов в моче. Уровень ИЛ-1β увеличивался в 7,1 – 8 раз от величин нормы. Содержание ИЛ-6 и ИЛ-8 возрастало в 10-8 и 22-26 раз от уровня нормы. Во всех исследованных группах наблюдалась статистически значимая прямая корреляция уровня провоспалительных цитокинов мочи друг с другом. Наиболее сильная корреляция отмечена между уровнем в моче ИЛ-6 и ИЛ-8 (по методу Спирмена  $r=0,76$ ;  $p=0,000001$ ). Умеренная корреляция обнаружена между ИЛ-1β и ИЛ-6 ( $r=0,62$ ;  $p=0,000003$ ) и между ИЛ-1β и ИЛ-8 ( $r=0,55$ ;  $p=0,000053$ ).

Совершенно очевидно, что у пациентов с циститами и латентной формой калькулезного пиелонефрита нарастание цитокинов в моче является следствием включения в воспалительный процесс эпителия мочевыводящих путей или активации локального воспалительного процесса. Его проявлением становится выброс основных провоспалительных цитокинов - ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-8. Это приводит к инфильтрации тканевых структур, окружающих мочевыводящие пути, макрофагами и лейкоцитами. Они становятся ответственными как за дальнейшее пролигирование развития тубулоинтерстициального воспаления, так и за переход локального воспаления, по-видимому, при обострении хронического калькулезного пиелонефрита в синдром системного воспалительного ответа.

Диагностическое значение исследования содержания провоспалительных цитокинов в моче и сыворотки крови при хроническом и остром калькулезном пиелонефрите по анализу чувствительности и специфичности оценивалась с помощью построения характеристической кривой (ROC-анализ). Информативность каждого из провоспалительных цитокинов в моче оценивалась по величине площади под кривой. На характеристических кривых выбраны диагностические пороги (точки разделения), которые соответствует максимально возможной чувствительности и специфичности выявления активности воспалительного процесса в ткани почки для исследуемого показателя (табл.2).

Как видно из полученных расчетов уровни провоспалительных цитокинов в моче ИЛ1β от 3,8 до 10,3 пг/мл, ИЛ-6 до 24,9 пг/мл, ИЛ-8 от 17,2 до 132,2 пг/мл с высокой степенью диагностической чувствительности и специфичности свидетельствуют о локальном воспалительном процессе, развивающимся на уровне эпителиальной выстилки мочевыводящих путей и в интерстициальной ткани почек при латентном калькулезном пиелонефрите.

Нарастание уровня провоспалительных цитокинов в моче : ИЛ1β выше 10,3 пг/мл, ИЛ-6 выше 24,9 пг/мл, ИЛ-8 выше 132,2 пг/мл свидетельствует о активации воспалительного процесса на уровне интерстициальной ткани почек, недостаточности регуляторных систем и развития синдрома системного воспалительного ответа.

## Выводы

Наиболее высокую диагностическую чувствительность и специфичность как показатель активности воспалительного процесса на уровне мочевыводящих путей показало изменение уровня ИЛ-8. Это дает основание считать, что количественное определение ИЛ-8 в моче может быть использовано для оценки тяжести воспалительного процесса в мочевыводящих путях и значительно повысить точность выбора метода хирургического вмешательства при калькулезных пиелонефритах ( № ФСР 2009/04036 от 13 ноября 2010 года - набор реагентов «ИНТЕРЛЕЙКИН-8-ИФА-БЕСТ» может быть использован для достоверного количественного определения содержания ИЛ-8 в сыворотки крови и в моче).■

*Глыбочко П. В., чл.-корр.РАМН, ректор ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова, г.Москва; Захарова Н. Б., д.м.н., профессор каф.клин.лаб. диагностики, зав.ЦНИЛ ГОУ ВПО СаратовскийГМУ им.В.И.Разумовского Минсоцздрава России, г.Саратов; Понукалин А. Н., к.м.н., доцент каф. урологии ГОУ ВПО СаратовскийГМУ им.В.И.Разумовского Минсоцздрава России, г. Саратов; Гражданов Р.А., аспирант каф. урологии ГОУ ВПО СаратовскийГМУ им.В.И.Разумовского Минсоцздрава России, г. Саратов; Россоловский А.Н. к.м.н., доцент каф. урологии ГОУ ВПО СаратовскийГМУ им.В.И.Разумовского Минсоцздрава России, г. Саратов; Варахши Н.А., к.б.н., зав.лабораторией ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кальцово; Полозов А.Б. д.м.н., профессор каф. урологии ГОУ ВПО СаратовскийГМУ им.В.И.Разумовского Минсоцздрава России, г. Саратов; Блямберг Б.И. к.м.н., доцент каф. урологии ГОУ ВПО СаратовскийГМУ им.В.И.Разумовского Минсоцздрава России, г. Саратов; Автор, ответственный за переписку - Захарова Наталья Борисовна, 410012, г.Саратов, ул.Рабочая 40/60, кв.159, тел. 7 (8452) 39-08-16, E-mail: lipidgorn@mail.ru*