

УДК: 616.611-002-022-06-097

ОСОБЛИВОСТІ ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА ІНФЕКЦІЇ СЕЧОВОЇ СИСТЕМИ ТА МОЖЛИВІ МЕХАНІЗМИ ЇХ ХРОНІЧНОГО ПЕРЕБІГУ

ДРАННІК Г.М.², ДРІЯНСЬКА В.Є., ГАЙСЕНЮК Ф.З., СТЕПАНОВА Н.М.,
РУДЕНКО А.В.², САВЧЕНКО В.С.², КРУГЛІКОВ В.Т., КАЛІНІНА Н.А.², КОРНІЛІНА О.М.,
ЛЕБІДЬ Л.О., ЛАВРЕНЧУК О.В., СИДОРЕНКО Є.В., РОМАНЕНКО О.А.

ДУ «Інститут нефрології НАМН України», Київ;
ДУ «Інститут урології АМН України», Київ, Україна²

Збільшення поширеності інфекцій сечової системи є важливою медико-соціальною проблемою, актуальність якої обумовлена, насамперед, збільшенням кількості хворих з латентним або рецидивуючим перебігом. Стійкість організму щодо впливу шкідливих факторів та ймовірність виникнення хвороби здебільшого визначається станом фізіологічних систем неспецифічної резистентності, механізми реалізації якої включають різні рівні структурної організації: молекулярний, клітинний, органний та на рівні організму в цілому. Біологічний характер реакцій неспецифічної резистентності пов'язаний з мобілізацією функціональних резервів організму у відповідь на дію шкідливих патологічних факторів, які різняться у хворих з інфекціями сечової системи залежно від характеру збудника та топіки процесу [11, 12, 14, 16, 22].

Найбільш частою мікробіологічною причиною виникнення інфекцій сечової системи (ІСС) (пієлонефритів, циститів) вважають *E.coli* – приблизно 85% серед усіх збудників. В 12% випадків етіологічним фактором може бути *S. sargorhynchus*; інші ентеробактерії і ентерококи складають лише 5%. При ускладнених пієлонефритах частота виявлення *E.coli* із сечі хворих знижується до 52%, а етіологічна роль інших ентеробактерій підвищується до 28% [1]. Суттєвим фактором, що ускладнює перебіг хронічних інфекцій сечової системи (ХІСС), є наявність у хворого, крім бактеріальних, супутніх вірусних інфекцій, токсоплазмозу та хламідіозу [3, 11].

Таким чином, етіологічний спектр збудників у хворих на ІСС досить широкий і цей факт може впливати на стан імунітету – як на кількість імункомпетентних клітин, так і на їх функціональну активність по продукції цитокінів – інтерлейкінів, інтерферонів, факторів росту [9, 10, 20, 21].

Значення цитокінової данки імунітету, в тому числі в протиінфекційному імунітеті, безперечно. Привернули увагу деякі публікації, які свідчать про особливості показників імунітету, в тому числі цитокінової ланки, не тільки у хворих, але навіть у здорових донорів, які є безсимптом-

ними носіями умовно-патогенної та патогенної мікрофлори - у носіїв умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів виявлені особливості змін поглинального потенціалу нейтрофілів і дисбаланс рівня про- і протизапальних цитокінів [5].

Цитокіни відіграють важливу роль в розвитку патології - регулюють розвиток місцевих захисних реакцій в тканинах з участю різних типів клітин крові, ендотелію, сполучної тканини та епітелію. Захист на місцевому рівні розвивається шляхом формування запальної реакції у відповідь на проникнення в тканини патогенів за участю прозапальних цитокінів (ІЛ-1, -6, -23, ФНП, МСР-1) і хемокінів (ІЛ-8), які синтезуються у вогнищі запалення, головним чином, макрофагальними клітинами, активованими компонентами клітинної стінки патогенів, а також у відповідь на пошкодження тканин [9, 10]. Вони посилюють спрямовану міграцію лейкоцитів у вогнище запалення та підвищують їх функціональну активність: фагоцитоз і продукцію кисневих радикалів, спрямовану на елімінацію патогену [8, 13].

Цитокіни макрофагів визначають тип імунної відповіді, впливаючи на диференціювання Т-хелперів. Ідентифікація субпопуляцій Т-х виявила, що Т-х 1 продукують ІЛ-2, γ -ІФ, ІЛ-3, лейкотрієни, GM-CSF, Т-х 2 – ІЛ-4, ІЛ-10 та ін, Т-х 3 або Т-регуляторні – ІЛ-10, ТФР- β [9, 10]. Антигенпредставляючі клітини у відповідь на стимуляцію антигеном продукують ІЛ-12, який сприяє перетворенню Т-х 0 в Т-х 1, індукція цитокінового фенотипу Т-х 2 відбувається під впливом ІЛ-4 [2, 8].

Нашу увагу привернули публікації щодо ІЛ-17, етіологічна та патогенетична роль досліджується при багатьох інфекційних та аутоімунних захворюваннях [17, 23, 26]; показано, що його рівні збільшуються при деяких запальних станах, таких як системний склероз, псоріаз і ревматоїдний артрит, коліт, енцефаломієліт, розсіяний склероз [18, 27, 29]. Відомо, що продукується цей лімфокін Т-хелперами 17, які диференціюються з CD4+ Т-лімфоцитів під впливом TGF- β , ІЛ-6, ІЛ-23 і секретують, крім ІЛ-17, ФНП- α , ІЛ-6, ІЛ-8, МСР-1 та ін. [15, 19, 25, 26, 28].

Таким чином, цитокіни відповідають за всі послідовні етапи розвитку адекватної відповіді на втручання патогену, забезпечення його локалізації та знищення, відновлення ушкодженої структури тканин. Тому вивчення особливостей цієї ланки імунітету при запальних захворюваннях сечової системи представляє безперечний інтерес.

Метою роботи є розробка концепції імунопатогенезу хронічних рецидивуючих інфекцій сечової системи на основі визначення особливостей біоценозу сечостатевої системи, стану місцевого та системного імунітету і особливостей цитокінової ланки.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Клініко-імунологічні обстеження проведено у 200 хворих на ІСС – 163 з хронічним рецидивуючим пієлонефритом (ХрПН), 27 – гострим пієлонефритом (ГПН) та 10 – хронічним рецидивуючим циститом (ХрЦ) віком від 15 до 53 років (в середньому 32±3). Критерієм виключення пацієнтів із дослідження було наявність ознак обструкції сечових шляхів та порушення функції нирок.

Матеріалом для мікробіологічних досліджень були сеча, зішкряби слизової уретри, цервікального каналу та мазки з піхви жінок, які були госпіталізовані або знаходились на амбулаторному лікуванні в ДУ «Інститут нефрології НАМН України».

Мікробіологічні дослідження щодо ідентифікації бактерій за їх морфологічними, культуральними, біохімічними властивостями проводили згідно наказу МОЗ СРСР № 535 [4]. Для посівів використовували поживні середовища фірми «HiMedia» (Індія).

Оцінку клітинної ланки імунітету проводили за допомогою моноклональних антитіл (МКА) до диференціальних антигенів лімфоцитів CD3, CD4, CD8, CD22 та СД 119+. Вміст імуноглобулінів класів А, G, М визначали методом радіальної імунодифузії по Манчіні [24], імуних комплексів - за допомогою методу преципітації поліетиленгліколем [4]. Кількість фагоцитуючих клітин та їх поглинаючу активність визначали по їх здатності поглинати частинки латексу.

За допомогою клітинного цитофлуориметру «Vecton Dickinson» та mAt Leu 4+DR+, Leu 4-DR+ визначено експресію DR-антигенів на Т- і не-Т-клітинах 50 хворих та 15 здорових донорів.

Продукція цитокінів визначалась шляхом дослідження спонтанного та індукованого синтезу медіаторів імунітету клітинами здорових донорів та хворих в умовах in vitro, а також в сироватках крові (ІЛ-1 β, -4, -6, -8, -10, -17, -23, ФНП-α, γ-ІФ, МСР-1, ТФР-β) з використанням сучасних тест систем та методик. Аналіз індукованої продукції дозволяв оцінювати компенсаторний резерв клітин за продукцією відповідних лімфокінів. Тестування проводилось за допомогою

імуноферментного методу на приладі Stat Fax 303 Plus; використовували тест-системи «Diaclose» (Франція), DRG (США), Тов «Укрмед Дон» (Донецьк, Україна).

Отримані дані оброблені статистично на персональному комп'ютері за допомогою пакета програм «SPSS for Windows. Версія 11» та «MedStat» [6]. Для статистичної обробки використовувались параметричні критерії статистики - тест Ст'юдента або непараметричні – критерій Уїлкоксона. Достовірною вважали різницю при p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

1) **Етіологічні чинники ІСС.** Спектр мікроорганізмів, виділених нами з сечі хворих на ІСС, відрізнявся великим різноманіттям, за рахунок чого провідний патоген *E.coli* хоч і виявлявся частіше інших, але тільки в середньому в 35 % випадків (рис. 1).

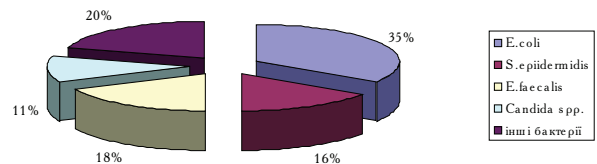


Рис. 1. Видовий спектр бактеріальної та грибової мікрофлори сечостатевої системи у хворих на ІСС (в %)

У хворих на ХрПН було виділено 182 штами умовно-патогенних аеробних бактерій переважно із сечі. Серед виділених штамів більшість склали ентеробактерії – 97 (53,3%), а саме, кишкова паличка (*E.coli*) – 75 (41,2 %) штамів, протеї – 7 (3,8 %), клебсієли – 5 (2,7 %), інші представники ентеробактерій – 10 (5,5%; рис. 2). Решту виділених бактерій склали грампозитивні коки – 85 (46,7 %) штамів, серед яких 36 (19,8 %) відносились до ентерококів (*E. faecalis*), 34 (18,9 %) - до різних видів стафілококів (в основному *S. epidermidis*, а такий відомий патоген, як *S. aureus*, був представлений лише 4 штамами). Різні види стрептококів склали 14 (7,7 %) виявлених штамів (рис. 2).

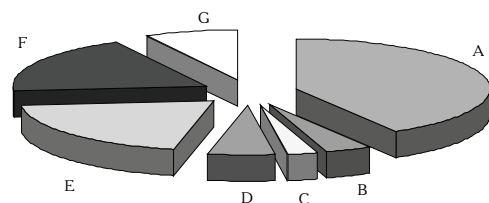


Рис. 2. Спектр бактеріальної флори, виділеної у хворих на ХрПН: **A** – *E.coli* (41,2 %); **B** – *Proteus spp.* (3,8 %); **C** – *Klebsiella spp.* (2,7 %); **D** – інші ентеробактерії (5,5 %); **E** – *Enterococcus spp.* (19,8 %); **F** – *Staphylococcus spp.* (18,9 %); **G** – *Streptococcus spp.* (7,7 %)

Таке різноманіття може бути зв'язано з наявністю умовно-патогенної мікрофлори іншої локалізації з подальшою міграцією її по сечовим шляхам до нирки. В нашій роботі це пока-

зано при дослідженнях уретри, цервікального каналу шийки матки та піхви; *E.coli*, як і інші ентеробактерії, найбільш часто виділяються з сечі (рис. 3).

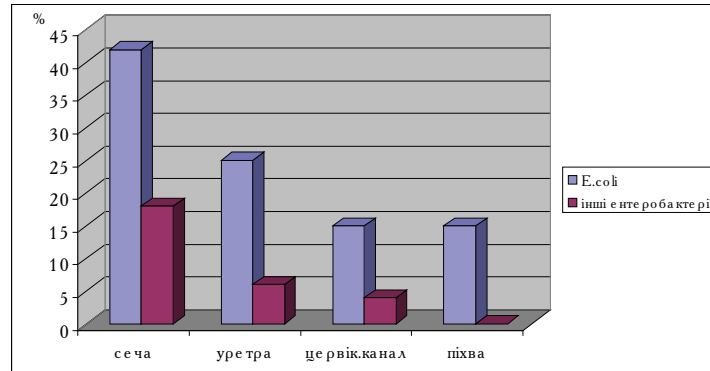


Рис. 3. Локалізація *E.coli* та інших ентеробактерій у жінок з хронічним рецидивуючим неускладненим пієлонефритом

Стафілококи з однаковою частотою виявлялись в дослідженому матеріалі. Для ентерококів найбільш характерна локалізація в уретрі, цервікальному каналі та піхві (рис. 4).

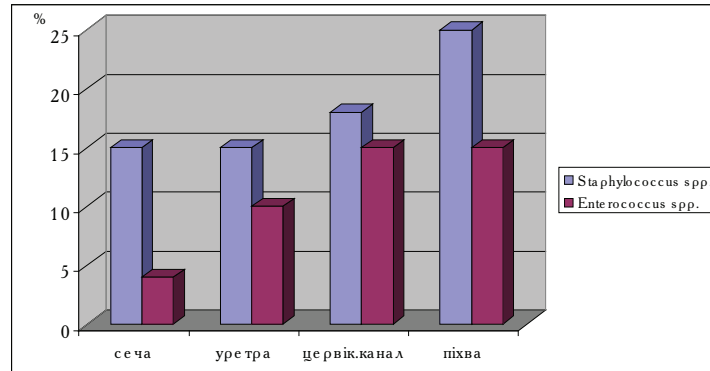


Рис. 4. Локалізація сапрофітних стафілококків та ентерококків у жінок з хронічним рецидивуючим неускладненим пієлонефритом

Гриби роду *Candida* локалізувалися, головним чином, в піхві, а уреоплазми – в уретрі та цервікальному каналі (рис. 5).

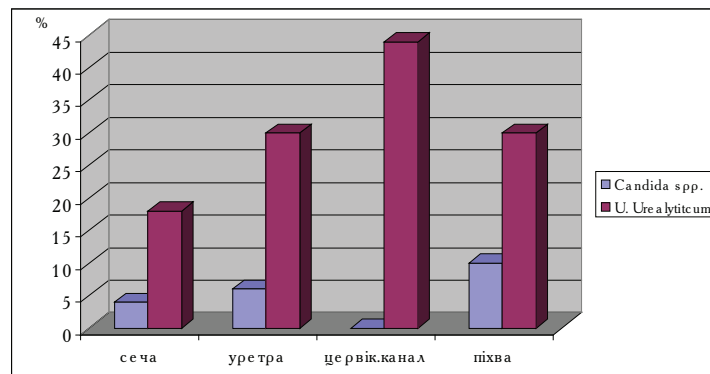


Рис. 5. Локалізація *Candida spp.* та *U. Urealyticum* у жінок з хронічним рецидивуючим неускладненим пієлонефритом.

2) Стан місцевого імунітету у хворих на ICC. Вивчення показників, що характеризують стан гуморального мукозального імунітету, виявило різке зниження рівня секреторного IgA (sIgA) у хворих на ХрПН, що може бути обумовлено про-

лонговою альтерацією епітеліального шару слизової внаслідок дії мікробних антигенів, що призводить до дефіциту sIgA та його секреторного компонента (SC), рівні якого були нижче контролю (рис. 6).

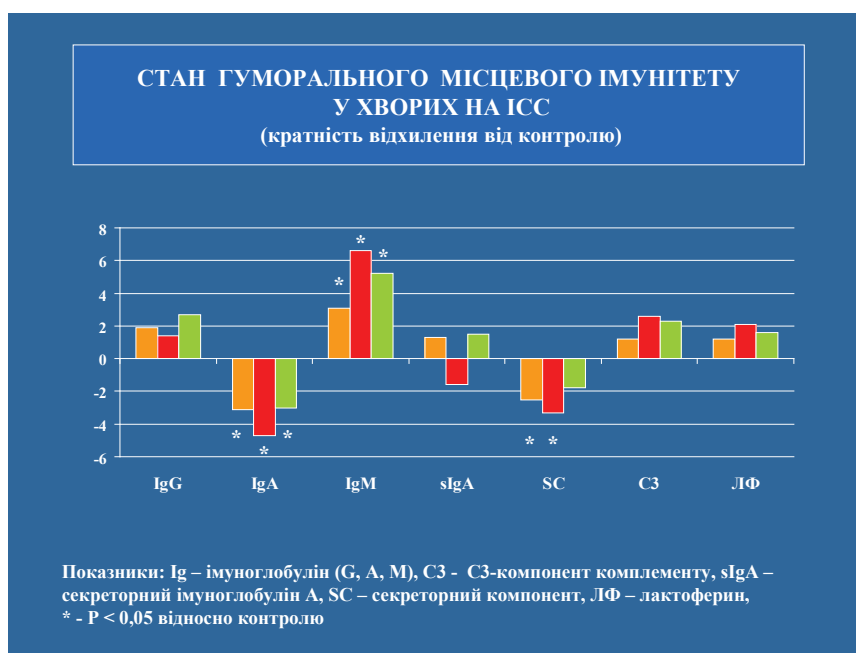


Рис. 6. Стан гуморального місцевого імунітету у хворих на хронічний неускладнений (1), ускладнений (2) пієлонефрити та цистит (3).

3) Стан системного імунітету у хворих на ІСС. Аналіз стану системного імунітету виявив при ГПН достовірне підвищення рівня ЦІК, зниження відносного рівнів лімфоцитів, співвідношення CD4:CD8, IgG, показника фагоцитозу в порівнянні як з нормою, так і з іншими групами, а також зниження відносного рівню CD4+ - підвищення - CD22+-лімфоцитів (табл. 1).

У хворих на ХрПН було достовірне зниження відносного та абсолютного рівня CD4+-клітин та співвідношення CD4+/CD8+, а також підвищення відносної кількості CD22+-лімфоцитів, IgM та ІК. За даними кількості лейкоцитів, лім-

фоцитів, рівня імуноглобулінів G, A, показника фагоцитозу (ПФ) та фагоцитарного числа (ФЧ) не виявлено особливостей в порівнянні з нормою (табл. 1). Порівняння показників стандартного імунітету у хворих на ХрПН і ХЦ продемонструвало, що у останніх також знижений рівень співвідношення CD4+/CD8+ і підвищений - IgM в порівнянні з нормою, інших особливостей не відмічено, що підтверджує більш виражені порушення імунітету у разі наявності хронічного запалення нирок. Але найбільш низькі рівні CD4/CD8, IgG, показника фагоцитозу відмічено у пацієнтів з ГПН.

Таблиця 1

Показники імунітету хворих на ХрПН і ХрЦ в порівнянні з здоровими донорами (* - різниця достовірна в порівнянні з нормою, ^ - в порівнянні з іншими групами, p<0,05)

Параметри	Норма у здорових (63)	Хворі на ГПН (27)	Хворі на ХрПН (163)	Хворі на ХрЦ (10)
1	2	2 група	3	4
Лейкоцити	5448±162	10620±240	5643±123	5320±200
Лімфоцити %	35,74±0,83	20,20±1,30*^	35,26±0,31	35,4±2,10
Абс. ч. (кл/мкл)	1956±66	1910±121	1878±14	1896±98
CD3+-кл. %	49,48±0,86	44,22±2,70	46,12±0,20	46,21±2,30
Абс. число	969±29	894±63	912±11	857±29
CD22+кл. %	17,20±0,60	23,20±1,60*	20,57±0,30*	20,13±2,30
Абс. число	373±11	530±50	384±7	375±25
CD4+-кл. %	30,18±0,43	22,00±1,81*	23,92±0,36*	26,4±1,4
Абс. число	559±17	430±58	451±9*	495±36
CD8+-кл. %	19,30±0,50	17,22±1,16	18,30±0,27	19,00±1,10
Абс. число	382±16	328±47	324±9	352±30
CD4:CD 8	1,66±0,05	1,21±0,10*^	1,47±0,02*	1,45±0,09*
ІК од.оп.щ.	0,08±0,006	0,15±0,02*^	0,11±0,001*	0,08±0,02
Імуногл. (г/л)				
G	12,9±0,37	9,40±1,40*^	12,74±0,22	13,40±1,20
A	1,52±0,05	1,50±0,30	1,61±0,01	1,50±0,10
M	1,16±0,05	1,23±0,20	1,41±0,01*	1,68±0,18*
ПФ %	67,6±1,1	54,0±5,1*^	63,7±0,6	65,8±3,10
ФЧ од.	6,2±0,1	7,4±2,0	7,3±0,07	5,6±0,22

Важливим показником комунікаційних властивостей системи імунітету є характеристика експресії антигенів гістосумісності, що забезпечують міжклітинні взаємодії в імунній відповіді. Тому нам представлялось важливим вивчити представництво на клітинах HLA-DR антигенів (на Т-, та на В-лімфоцитах). Дослідження останніх років показали, що при визначених умовах активовані Т-лімфоцити здатні експресувати ці антигени (більшість авторів вважають, що до 5% Т-лімфоцитів DR-позитивні). Нами була обстежена група здорових осіб м Києва, рівень експресії DR-антигенів на Т-лімфоцитах склав у середньому $4,43 \pm 0,93\%$. Вивчення числа DR+-клітин у хворих на ГП показало, що середній показник достовірно не відрізняється здорових донорів - $5,7 \pm 1,1\%$ ($p > 0,05$), але має місце достовірне підвищення кількості хворих, ступінь експресії DR антигенів на Т-лімфоцитах у яких перевищує 5%, в порівнянні із здоровими, - відповідно 42% та 21% ($p < 0,05$). У хворих на ХрПН експресія антигенів II класу на Т-лімфоцитах наближається до норми та не відрізняється від показників при гострому процесі: $3,73 \pm 0,31$ та $5,7 \pm 1,1\%$ ($p > 0,05$).

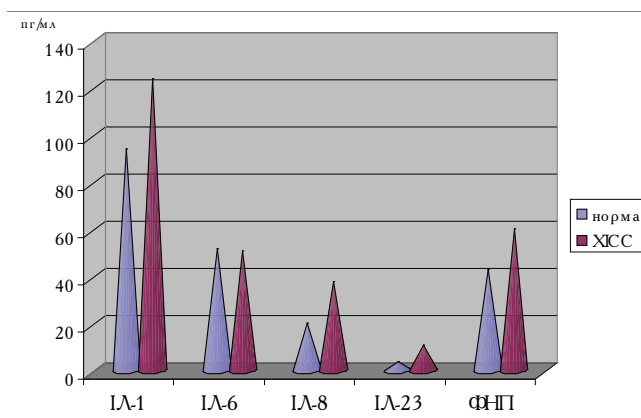
Середня експресія HLA-DR антигенів на не-Тклітинах (в основному, В-лімфоцитах, моноцитах/макрофагах) у хворих на ГП не відрізнялася від даних норми ($7,92 \pm 1,30\%$) та склала $10,85 \pm 1,17\%$ ($p > 0,05$). Проте, індивідуальний аналіз дозволив звернути увагу на те, що у третини хворих представництво DR-антигенів на клітинах моноцитарно-макрофагального ряду нижче 7%, що можна вважати недостатнім рівнем для презентації антигенів та нормальної кооперації всієї системи імунітету, що може приводити до неадекватності імунної відповіді на антигенний стимул, наслідком чого стає хронізація захворювання.

За нашими даними, кількість клітин, що несуть антигени II класу на не Т-лімфоцитах хворих з ХрПН не відрізнялась від групи хворих з ГП та відповідно від здорових і складала $10,16 \pm 0,98\%$ (всього у 14% хворих кількість DR+-клітин було

нижче 7%). Проте, це не означає, що зниження цього показника у хворих в гострому періоді не могло бути причиною переходу запалення у нирках у хронічний процес, і тільки тривала продукція прозапальних цитокінів (особливо γ -ІФ) сприяла підвищенню цієї експресії. Тобто, не можна виключити, що виділена нами група хворих на ГП з низькою щільністю DR-аг і, відповідно, порушенням розпізнавання та презентації антигенів, є групою ризику хронізації захворювання та потребує імунокорекції, спрямованої на підвищення числа клітин, експресуючих HLA-антигени II класу. В даному аспекті вважаємо цікавим надалі провести проспективне обстеження хворих зі зниженою експресією HLA-DR антигенів з метою виявлення частоти виникнення хронічного пієлонефриту у цієї групи пацієнтів.

4) *Цитокінова ланка імунітету у пацієнтів.* Для уявлення про механізми імунопатогенезу важливим є вивчення функціональної активності клітин за результатами продукції цитокінів, які регулюють розвиток реакцій в тканинах за участю різних клітин крові, ендотелію, сполучної тканини та епітелію. Відомо, що інфекційні збудники здатні викликати дисрегуляцію цитокінового каскаду, починаючи з порушень в системі мононуклеарних фагоцитів [8, 10, 20]. Цитокіни макрофагів визначають тип імунної відповіді, впливаючи на диференціювання Т-хелперів [2]. Тому на першому етапі досліджень представляло інтерес вивчити особливості функціональної активності клітин моноцитарно-макрофагальної системи хворих на хронічні рецидивуючі інфекції сечової системи – ХІСС по продукції прозапальних цитокінів.

Дослідження продемонстрували достовірне підвищення спонтанної та індукованої секреції ФНП- β , ІЛ-1, -8; рівні в сироватці крові ІЛ-1, ІЛ-8 -23 і ФНП- β перевищували норму, а ІЛ-6 - не відрізнявся (рис. 7). Рівень MCP-1 в 2 рази перевищував середній показник у здорових – відповідно $396,7 \pm 15,0$ в порівнянні з $192,8 \pm 21, 1$ пг/мл ($p < 0,001$).



* - різниця з нормою достовірна

Рис. 7. Рівень прозапальних цитокінів в сироватці крові хворих на ХІСС.

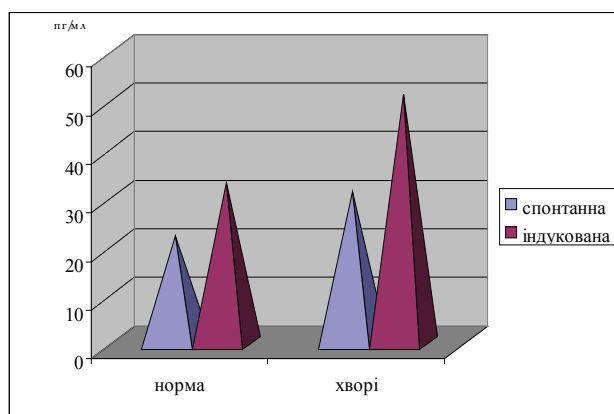
Дослідження активності Т-хелперів показали, що спонтанна продукція γ -ІФ не відрізняється від норми - $25,9 \pm 1,6$ в порівнянні з $26,6 \pm 0,9$ пг/мл у здорових донорів ($p > 0,05$), тоді як індукована достовірно знижена - $40,7 \pm 3,7$ в порівнянні з $67,4 \pm 6,0$ пг/мл ($p < 0,05$). Дослідження сироваток крові хворих показало підвищення рівня γ -ІФ в порівнянні з здоровими донорами – відповідно $84,0 \pm 8,1$ та $20,2 \pm 2,2$ пг/мл ($p < 0,001$). Зниження індукованої продукції γ -ІФ може бути обумовлено зменшенням резервних можливостей Т-х 1 на тлі тривалої їх стимуляції завдяки високій активності моноцитарно-макрофагальної ланки по продукції прозапального ІЛ-1 в умовах хронічного запалення в нирках.

Дослідження відносного рівня клітин, що експресують рецептори до гама-інтерферону, показали, що у хворих показник γ -ІФ-Р+ - клітин (СД 119+) – $34,07 \pm 0,80\%$ достовірно вище норми у здорових – $13,87 \pm 0,77\%$ ($p < 0,001$), що свідчить про їх активацію та спроможність відповіdatи на інтерферон.

Аналіз рівню ІЛ-4 в сироватках крові продемонстрував його 5-кратне підвищення – $83,94 \pm 2,3$ в порівнянні з $16,11 \pm 0,74$ пг/мл у здорових ($p < 0,001$). Вважаємо, що високий рівень продукції ІЛ-4 демонструє напруженість імунітету по підвищенню ефективності гуморальної ланки, необхідним учасником якої можна вважати ІЛ-4, у хворих з довготривалою персистенцією інфекційного агенту, але ефективність такої активації незадовільна щодо елімінації збудника.

Дослідження показали, що спонтанна та індукована продукція, а також рівень в сироватці протизапального ІЛ-10 були знижені ($11,1 \pm 0,7$ проти $19,9 \pm 3,7$ пкг/мл, $p < 0,05$).

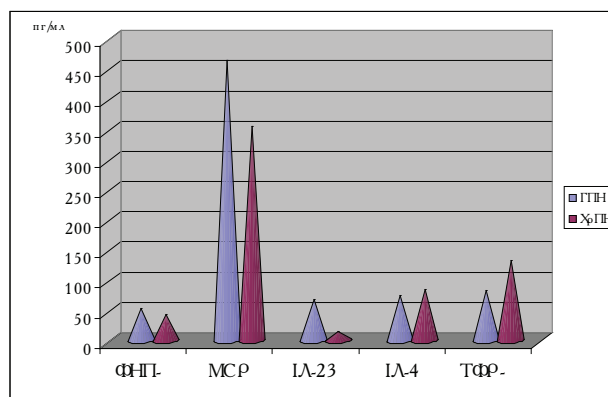
Спонтанна та індукована продукція протизапального, але просклеротичного ТФР- β була підвищена (рис. 8), його рівень в сироватці крові був також високим – $92,7 \pm 5,4$ в порівнянні з $56,6 \pm 4,3$ пг/мл у здорових осіб ($p < 0,001$).



* - різниця з нормою достовірна

Рис. 8. Спонтанна та індукована продукція ТФР-клітинами здорових донорів і хворих на ХІСС.

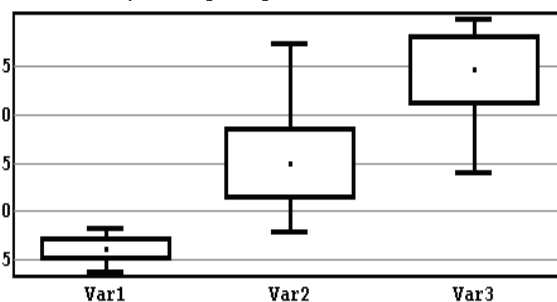
Дослідження хворих на ГПН також показали високий рівень вивчених цитокінів в крові. Співставлювальний аналіз груп продемонстрував, що середні показники прозапального ІЛ-23 і МСР-1 були достовірно вище при ГПН, а ТФР- при ХрПН (рис. 9), інших достовірних відмінностей не виявлено.



* - різниця достовірна

Рис. 9. Середні рівні про- (ФНП- α , МСР-1, ІЛ-23) та протизапальних (ІЛ-4, ТФР- β) медіаторів в крові хворих на гострий та хронічний пієлонефрит.

У обстежених хворих на ІСС активність Т-хелперів 17 була високою і не відрізнялась в групах хворих на ГПН та ХрПН (рис. 10). Беручи до уваги, що рівень ІЛ-23, який стимулює продукцію ІЛ-17 [29], більш низький при ХрПН порівняно з гострим (рис. 9), можливо, відсутність достовірної різниці рівнів ІЛ-17 обумовлена більш високою продукцією ТФР- при хронічному процесі (рис. 9), який також здатний індукувати Т-хелпери 17 [250].



$P_{2,3-1} < 0,05$; $P_{2-3} > 0,05$

Рис. 10. Середній рівень ІЛ-17 в сироватці крові хворих на ГПН (Var 2) та ХрПН (Var 3) пієлонефрит в порівнянні з нормою (Var 2).

Аналіз цитокінової ланки хворих залежно від топичного діагнозу дозволив виявити достовірну різницю за даними рівня ФНП-, який був вище у хворих з циститом – відповідно $99,67 \pm 8,5$ та $43,51 \pm 5,0$ пкг/мл, інші показники не відрізнялись при порівнянні груп ($p > 0,05$).

5) *Етіозалежні особливості стану імунітету у хворих на ХІСС.* При мікробіологічному дослідженні хворих на ХрПН виявлені бактерії та молікути різних груп, тому для уявлення про можливу кореляцію між характеристикою збудників запального процесу та станом місцевого та системного імунітету проведений аналіз показників в різних групах.

Дослідження клітинних факторів неспецифічного мукозального імунітету у хворих в залежності від виявлених збудників - моно- (класичні бактерії, молікути) або мікст-інфекція - дозволило встановити: в усіх групах хворих відмічено підвищення кількості фагоцитуючих клітин на фоні зниженої інтенсивності фагоцитозу в порівнянні з контролем; в більшій мірі це стосувалося пацієнтів, у яких були виявлені класичні бактерії (моно або в асоціації з молікутами) (рис. 10).

Гуморальний мукозальний імунітет у хворих з наявністю бактеріальної інфекції характеризувався найбільш зниженим рівнем лактоферину, секреторного і мономірного імуноглобуліну А, секреторного компоненту на фоні суттєвої активації комплементу (С3) і високого рівню імуноглобуліну М (рис. 10).

Зниження рівня секреторного ІgА (sIgA) на фоні стимуляції продукції Іg у хворих на ХрПН, скоріш за все, обумовлено пролонгованою альтерацією епітеліального шару слизової оболонки в результаті дії мікробних антигенів, що і призводить до дефіциту sIgA та його секреторного компоненту (SC), що ще більше знижує протиінфекційний імунітет.

У хворих з інфекцією, обумовленою молікутами, відмічено підвищення, в першу чергу, рівня ІgM і секреторного ІgА (рис. 10).

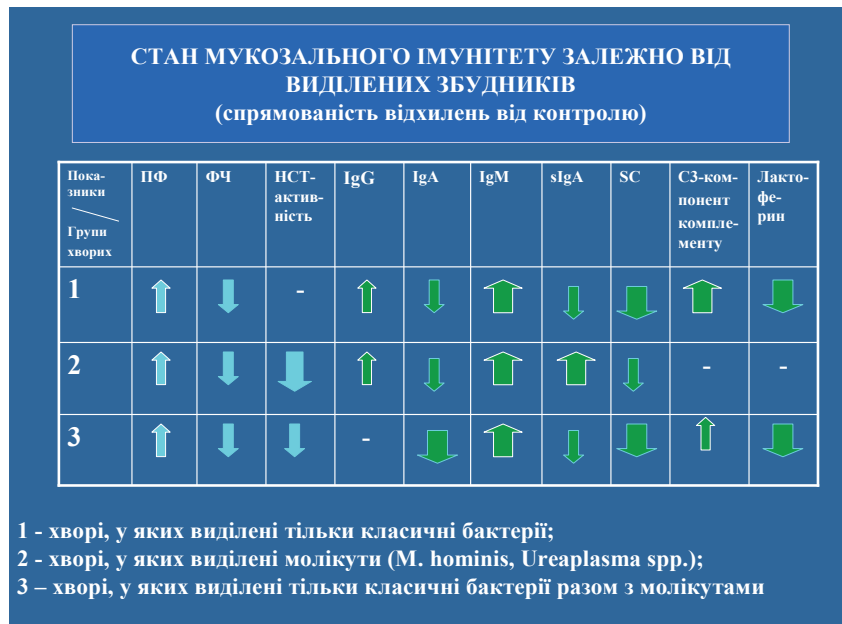


Рис. 10. Стан мукозального імунітету залежно від етіологічних чинників хронічного пієлонефриту та циститу.

Виявлені особливості системного імунітету з урахуванням розподілу хворих на групи представлені в табл. 2.

Таблиця 2

Особливості показників імунітету залежно від чинників ХІСС

Етіологічні фактори	Кількість хворих	Результат співставлення груп між собою (на тлі високого рівня ІЛ-1, -8, ФНП-α)
1. <i>E. Coli</i> (моно-інфекція)	28	найбільш висока продукція і рівень в сечі ІЛ-8
2. <i>E. Coli</i> (мікст-інфекція)	50	найбільш низький рівень CD3+-кл., CD4/CD8 і ІЛ-4
3. бактеріальна інфекція + <i>U. Urealyticum</i>	42	найбільш низький коефіцієнт CD4/CD8
4. бактеріальна інфекція + <i>Chlamydia trachomatis</i>	30	зниження (в порівнянні з нормою та ін. групами) продукції γ-ІФ та підвищення – ІЛ-10; продукція ІЛ-1, ФНП і рівень ІЛ-6 в сечі найбільш низькі
5. бактеріальна інфекція + віруси (наявність діагностично значущого титру антитіл до ЦМВ та/або ВПГ в сироватці крові)	30	найбільш низький рівень в сечі серед всіх груп - γ-ІФ

Так, аналіз стандартних показників імунітету залежно від етіологічних чинників підтвердив зниження кількості хелперів/індукторів у пацієнтів всіх груп. Хворі з наявністю *U.urealyticum* та *S.faecalis*, співвідношення CD4+/CD8+ у яких найбільш низьке, можливо, потребують корекції Т-клітинної ланки імунітету.

У хворих на вірусну інфекцію (діагностичний рівень Ат до ЦМВ та ВПГ), уреоплазмоз та хламідіоз активність клітин по продукції ІЛ-1 та рівень γ -ІФ, ІЛ-6 в сечі нижче, ніж при наявності бактеріальної інфекції. Максимальною є активність клітин по продукції ІЛ-8 та рівень його в сечі у хворих з наявністю *E.coli* як моно- або мікст-інфекції, але в цій групі не було змін рівня CD22+-клітин та ЦІК, тоді як в інших він був високим. Хворі з хламідійною інфекцією характеризувались найбільш низьким рівнем ІЛ-1, ФНП та зниженням, в тому числі у порівнянні з нормою, спонтанної і індукованої продукції γ -ІФ. Можна вважати, що хворі з наявністю хламідій, діагностичного титру Ат до ЦМВ, ВПГ потребують стимуляції інтерференової ланки імунітету.

Отримані результати обстеження хворих на інфекції сечової системи свідчать про підвищення продукції клітинами моноцитарно-макрофагальної системи прозапальних цитокінів (ІЛ-1, -8, -23, ФНП- β , МСР-1); виявлені різноспрямовані зміни продукції цитокінів Т-лімфоцитами – звертає увагу зниження індукованої продукції прозапального γ -ІФ, в той же час продукція Т-х 2 і Т-регуляторними клітинами ІЛ-4 та ТФР- β , а Т-х 17 ІЛ-17 була високою.

б) Концепція імунопатогенезу хронічних рецидивуючих інфекцій сечової системи. Визначені особливості імунної системи, в тому числі залежно від спектра мікроорганізмів, у хворих на ІСС дозволяють нам охарактеризувати можливі ланки імунопатогенезу хронічних рецидивуючих інфекцій сечової системи (рис. 11).

Зниження інтенсивності фагоцитозу і функціонального резерву фагоцитів у хворих свідчить про недостатню здатність цих клітин відповідати на патогенні збудники. Не можна виключати важливу, а може й первинну, роль в цьому особливостей Толл-лайн рецепторів (2, 4, 11, а також 3, 7, 9 для внутрішньоклітинної інфекції) і DR-антигенів антиген-представляючих клітин (АПК – макрофагів і дендритних клітин), які відповідальні за розпізнавання на першому етапі (рис. 11 – 1 знак питання). Як компенсаторний механізм внаслідок недостатнього знищення чужорідних антигенів (2 знак питання) можна розглядати підвищення числа фагоцитуючих антиген-представляючих клітин і продукцію прозапальних цитокінів, стимулюючих, в свою чергу, Т-хелпери до диференціювання в Т-хелпери 1 та їх високої функціональної активності зі зниженням (3 знак питання) в подальшому індукованої продукції γ -ІФ внаслідок

зменшення резервних можливостей цих лімфоцитів і, відповідно, захисту від внутрішньоклітинних патогенів і вірусів.

Відмічене зниження числа CD4+-клітин і співвідношення CD4+/CD8+ (4 знак питання) може являтися самостійною причиною порушень клітинного імунітету або наслідком тривалого високого рівня прозапальних цитокінів в крові, що сприяє посиленню апоптоза Т-хелперів як найбільш чутливих до нього.

Таким чином, порушення на етапі фагоцитозу сприяють тривалій персистенції збудника, що викликає постійну стимуляцію продукції прозапальних моно- і лімфокінів (ІЛ-1 β , -8, -17, -23, ФНП- α , МСР-1, γ -ІФ) та протизапальних ІЛ-4, ТФР- β Т-хелперами 2 і Т-регуляторними на фоні тривалої стимуляції внаслідок високої активності моноцитарно-макрофагальної ланки і Т-хелперів 1 в умовах хронічного запалення. Високий рівень ІЛ-4, в свою чергу, стимулює гуморальну ланку, наслідком чого є підвищення рівня В-лімфоцитів, Іg М і ЦІК.

Відомо, що ІЛ-4 пригнічує продукцію прозапальних цитокінів ІЛ-1, ФНП та ІЛ-6, в той же час він проявляє прозапальну дію – посилює цитотоксичну активність макрофагів, сприяє міграції в очаг запалення нейтрофілів, посилює продукцію колонієстимулюючих факторів. Паралельно ІЛ-4 інгібує продукцію макрофагами супероксидних і нітроксидних радикалів і порушує відповідь макрофагів на дію окремих субкласів імуноглобулінів, змінюючи експресію відповідних FcR. ІЛ-4 посилює експресію продуктів МНС 2 класу та антигенпрезентуючу активність допоміжних клітин. В цьому відношенні ІЛ-4 є функціональним аналогом γ -ІФ, хоча в багатьох інших ситуаціях він виступає як його антагоніст [8, 13]. ІЛ-4 індукує диференціювання попередників В-клітин з кісткового мозку, викликає проліферацію пре-активованих лімфоцитів, експресію Fc ϵ R II/ CD23 на клітинах. Дія ІЛ-4 на ріст та диференціювання В-лімфоцитів опосередкована зв'язуванням ІЛ-4 із специфічними рецепторами на їх поверхні: на 82% попередників В-клітин виявлені такі рецептори. Поряд з В-клітинами ІЛ-4 стимулює і Т-лімфоцити [13]. Все це можна вважати позитивною дією ІЛ-4 в умовах інфекційного процесу. Але цієї високої активності у хворих недостатньо для успішного функціонування гуморальної ланки імунітету для знищення бактеріальної інфекції, в той же час висока активність ІЛ-4 може грати негативну роль в боротьбі з внутрішньоклітинною інфекцією, пригнічуючи внаслідок оберненого зв'язку функціональну активність Т-хелперів 1 (що підтверджується зниженою індукованою продукцією γ -ІФ) (5 знак питання).

Знижена активність Т-х 3 (Т-рег) по продукції ІЛ-10 свідчить про порушення імунорегуля-

торних механізмів та сприяє прогресуванню запального процесу та рецидивному перебігу ICC (6 знак питання).

Виражене зниження рівня секреторного IgA (sIgA) на фоні стимуляції продукції Ig у хворих може бути обумовлено пролонгованою альтерацією епітеліального покрову слизової оболонки внаслідок дії мікробних антигенів, що і призводить до дефіциту sIgA та його секреторного компоненту (SC), і це ще більше знижує протиінфекційний імунітет (7 знак питання).

Виявлені особливості цитокинової мережі у хворих дозволяють вважати можливим і доцільним її корекцію, що буде обґрунтовано подальшими дослідженнями.

ВИСНОВКИ

1. Превалюючим чинником інфекцій сечової системи (пієлонефриту та циститу) є *E. coli*; в цервікальному каналі, піхві визначається також умовно-патогенна мікрофлора – *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *U. urealyticum/parvum*, яка, потрапляючи в сечові шляхи, сприяє формуванню їх хронічного перебігу.
2. У хворих на хронічний пієлонефрит на тлі підвищення кількості фагоцитуючих клітин слизової сечостатевої шляхів виявлено зниження інтенсивності фагоцитозу як нейтрофілів, так і моноцитів/макрофагів та рівня секреторного IgA, що являється одним з факторів патогенезу внаслідок зниження захисних властивостей слизових оболонок.
3. Дослідження стану імунної системи у хворих на ICC виявили зниження рівня лімфоцитів та їх субпопуляцій – Т-лімфоцитів (CD3+), Т-хелперів/індукторів (CD4+), індексу CD4+/CD8+, що може вказувати на порушення клітинного імунітету; найбільш низькі рівні CD4+/CD8+, IgG і зниження показника фагоцитозу периферичної крові відмічено у пацієнтів з гострим пієлонефритом.
4. Середня експресія HLA-антигенів II класу у хворих на ГПН та ХрПН знаходиться в рамках норми – близько 10% клітин DR+-позитивні; у третини обстежених з ГПН їх представництво на клітинах моноцитарно-макрофагального ряду і В-лімфоцитах є низьким (<7%), що може порушувати презентацію інфекційних агентів та підвищувати ризик перебігу пієлонефриту в хронічний.
5. Аналіз системного імунітету в залежності від етіологічних факторів хронічного пієлонефриту показав, що характерне для пацієнтів зниження числа хелперів/індукторів найбільш виражене при бактеріальній мікст-інфекції з наявністю *E. Coli* та *U. urealyticum*, коефіцієнт CD4+/CD8+ у яких також найбільш низький.
6. Виявлено підвищення продукції і рівня в крові пацієнтів як з гострими, так хронічними ICC прозапальних цитокінів ІЛ-1β, -8, -17, -23, ФНП-α, MCP-1, що може посилювати ризики апоптозу клітин та зниження функціонального стану нирок.
7. Спонтанна продукція прозапального γ-ІФ у хворих на ХрПН не відрізняється від норми, але мітоген-індукована нижче, ніж у здорових донорів. Хворі з наявністю хламідій, діагностичного титру Ат до ЦМВ, ВПГ мають найбільш виражені порушення γ-ІФ ланки імунітету, що свідчить про доцільність корекції інтерференової ланки у таких пацієнтів, а високий рівень лімфоцитів з рецепторами до γ-ІФ (CD119+) дозволяє вважати імунну систему спроможною на відповідь.
8. Показано більш високий рівень в сироватці крові прозапальних ІЛ-23 і MCP-1 у хворих з гострим пієлонефритом, тоді як при хронічному достовірно більш високим є продукція протизапального, профіброгенного ТФР-β, що посилює ризик формування нефросклерозу та втрати в подальшому функції нирок.
9. У хворих виявлено підвищення продукції протизапальних цитокінів ІЛ-4, ТФР-в клітинами, їх рівнів в сироватці крові зі зниженням - ІЛ-10; дослідження етіологічних особливостей показало найбільш низьку, в порівнянні з іншими групами, продукцію ІЛ-4 у хворих з наявністю *St. Faecalis*, і високу ІЛ-10 при наявності *Ch. Trachomatis*, достовірної різниці між іншими показниками не було.
10. Особливості порушень як локального захисту слизових, так і реакцій системного імунітету, в тому числі залежно від етіологічного чинника запалення, є важливими складовими патогенезу хронічного рецидивуючого перебігу ICC, схематичні ланки якого викладені авторами - проблеми розпізнавання антигенів через експресію Толл-лайн рецепторів, HLA-DR, зниження інтенсивності фагоцитозу, рівня CD4+ та CD4+/CD8+, активності Т-х 1 на фоні тривалої високої продукції прозапальних цитокінів моноцитами/макрофагами, Т-х 17 і протизапального ІЛ-4 Т-х 2, що стимулює гуморальну ланку і виснаження продукції sIgA, яке поглиблює зниження місцевого імунітету та викликає замкнуте коло порушень, наслідком чого є ускладнення знищення патогенних чинників.
11. Знижена продукція ІЛ-10 сприяє тривалому запаленню, а підвищена продукція ТФР-β – склерозуванню нирок та формуванню з часом ниркової недостатності у хворих на ХрПН, що свідчить про доцільність використання своєчасної імунокорекції для підвищення ефективності лікування та запобігання розвитку ускладнень.

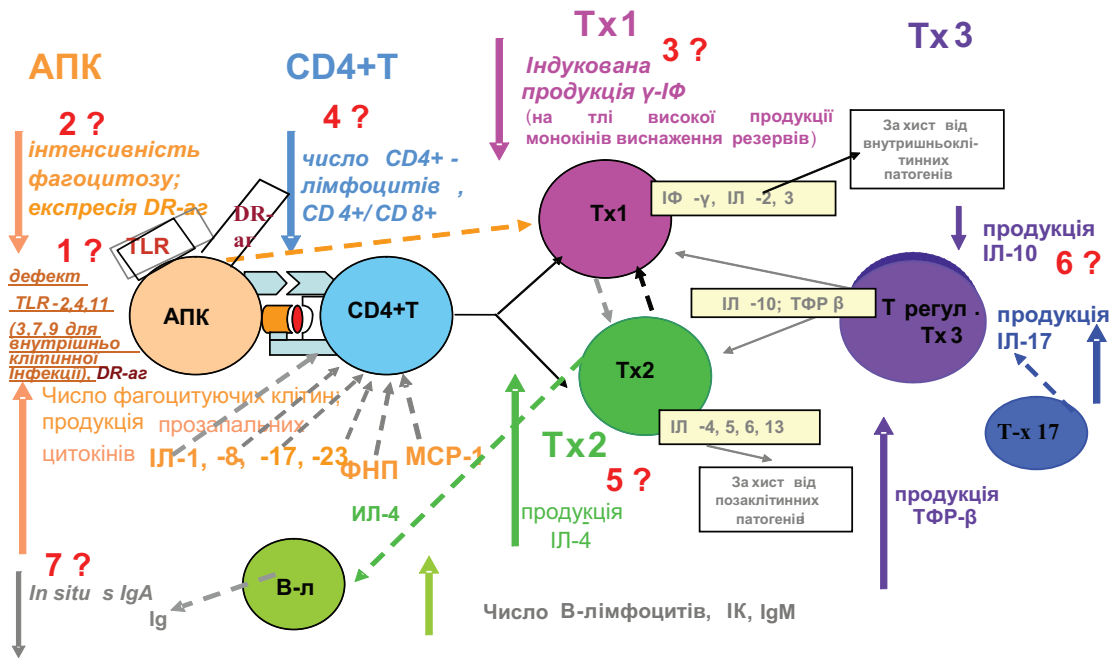


Рис. 11. Ланки імунопатогенезу хронічних рецидивуючих інфекцій сечової системи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дядька А. И. Инфекции почек мочевыводящих путей / А. И. Дядька, Н. А. Колесник. – Д. : КП «Регион», 2003. – 400 с. – ISBN 966-7696-63-4.
2. Козлов В. А. Некоторые аспекты проблемы цитокинов / В. А. Козлов // Цитокины и воспаление. – 2002. – № 1. – С. 5-8.
3. Колесник М. О. Етіологічний спектр інфекції сечової системи / М. О. Колесник, Н. М. Степанова, А. В. Руденко, В. Т. Кругліков // Укр. журн. нефрології та діалізу. – 2007. – № 3 (15). – С. 16-29.
4. Косицкая Л. С. Новый простой способ определения циркулирующих иммунных комплексов / Л. С. Косицкая // Иммунология. – 1980. – N 4. – С. 64-66.
5. Кузнецов В. Ф. Дисбаланс уровня про- и противовоспалительных цитокинов как основа формирования бессимптомного носительства условно-патогенной и патогенной микрофлоры у первичных доноров плазмы крови / В. Ф. Кузнецов, Е. Г. Орлова, Д. В. Ланин // Клиническая иммунология. – 2003. – Т. 5, № 3-4. – С. 437-438.
6. Лях Ю. Е. Анализ результатов медико-биологических исследований и клинических испытаний в специализированном статистическом пакете MEDSTAT / Ю. Е. Лях, В. Г. Гурьянов // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2004. – Т. 8, № 1. – С. 155-167.
7. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений (1985). Приказ МЗ СССР № 535 от 22.04.85. - Москва.
8. Симбирцев А. С. Цитокины - новая система регуляции защитных реакций организма / А. С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. - 2002. - № 1. - С. 24-27.
9. Фрейдлин И. С. Регуляторные Т-клетки: Происхождение и функции / И. С. Фрейдлин // Мед. иммунология. – 2005. – Т. 7, № 4. – С. 347-354
10. Хаитов Р. М. Современные представления о защите организма от инфекций / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 2000. - № 1. – С. 61-64.
11. Шаповалова О. В. Микрофлора урогенитального тракта у пациентов с воспалительными заболеваниями мочеполовых органов и ее чувствительность к антибактериальным препаратам / О. В. Шаповалова, В. В. Соколов, Н. В. Кочетова, И. Н. Никитенко // Дерматология та венерология. – 2003. - № 2. – С. 60-63.
12. Шифрис І. М. Профілактика та діагностика інфекцій сечової системи на амбулаторно-поліклінічному етапі : автор. ... канд. мед. наук : 14.01.37 / І. М. Шифрис – К., 2008. – 22 с.
13. Ярилин А. А. Симбиотические взаимоотношения клеток иммунной системы / А. А. Ярилин // Иммунология. – 2001. - № 4. – С. 16-21.

14. Яровой С. К. Современное состояние антибиотикорезистентности основных возбудителей пиелонефрита / С. К. Яровой, В. А. Максимов, Н. А. Шиманский, Е. Н. Карева // Урология. – 2010. – № 2. – С. 21-27.
15. Annunziato F. Phenotypic and functional features of human Th17 cells / F. Annunziato, L. Cosmi, V. Santarlasci, L. Maggi [et al.] // J. Exp. Med. – 2007. - V. 204. -- P. 1849 – 1861.
16. Bass P. Urinary tract infections / P. Bass, K. Jarvis., C. Mitchell // Prim. Car. Clin. Off. Pract. - 2003. - Vol. 30 – P. 239-242.
17. Bell E. Immune regulation : New player in the generation of TH17 cells / E. Bell // Nature Reviews Immunology. – 2007. – P. 581. - doi:10.1038/nri 2139.
18. Cooke A. Th17 Cells in Inflammatory Conditions / A. Cooke // Rev. Diabet. Stud. – 2006. – 3 (2). - P. 72-75.
19. Hwang S. Y., Kim J. Y., Kim K. W., Park M. K. / S. Y. Hwang, J. Y. Kim, K. W. Kim, M. K. Park [et al.] // IL-17 induces production of IL-6 and IL-8 in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts via NF-kappaB- and PI3-kinase/Akt-dependent pathways. - Arthritis Res. – 2006. - Ther. 6. – P. 120 -128.
20. Kassir K. Cytokine profiles of pediatric patients treated with antibiotic for pyelonephritis: potential therapeutic impact / K. Kassir, O. Vargas-Shiraishi, F. Zaldivar [et al.] // Clin. Diagn. Lab. Immunol. – 2001. – 8 (6). – P. 1060-1063.
21. Klumpp D. J. Uropathogenic Escherichia coli induces extrinsic and intrinsic cascades to initiate urothelial apoptosis / D. J. Klumpp, M. T. Rucyk, M. C. Chen [et al.] // Infect Immun. – 2006. – Vol. 74. – P. 5106-5113.
22. Leydon G.M. Women's views about management and cause of urinary tract infection: qualitative interview study / G. M. Leydon, S. Turner, H. Smith, P. Little // British Medical Journal. – 2010. – 340. – P. 279-283.
23. Liang S.C. Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides / S. C. Liang, X.Y. Tan, D. P. Luxenberg, R. Karim [et al.] // J. Exp. Med. – 2006. – V. 203. – P. 2271 - 2279.
24. Mancini G. Immunochemical quantitation of immunoglobulin or antigens by study radial diffusion / G. Mancini, D. Corborene, S. Hehemans // Immunochem. – 1965. – № 2. – P. 235-237.
25. Mangan P. R. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage / P. R. Mangan, L. E. Harrington, D. B. O'Quinn, W.S. Helms [et al.] // Nature. – 2006. – 441. – P. 231 - 234.
26. Ouyang W. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation / W. Ouyang, J. K. Kolls, Y. Zheng // Immunity. - 2008. - Apr. 28. - № 4. – P. 454 - 467.
27. Tzartos J.S. Interleukin-17 production in central nervous system-infiltrating T cells and glial cells is associated with active disease in multiple sclerosis / J. S. Tzartos, M. A. Friese, M. J. Craner, J. Palace [et al.] // Am. J. Pathol. – 2008. – 172. – P. 146 - 155.
28. Wenjun O. The Biological Functions of T Helper 17 Cell Effector Cytokines in Inflammation / O. Wenjun, K. K. Kolls, Z. Yan // Immunity. 2008. - Vol 28. – P. 454 - 467.
29. Yen D. IL-23 is essential for T cell-mediated colitis and promotes inflammation via IL-17 and IL-6 / D. Yen [et al.] // J. Clin. Invest. - 2006. - 116 (5). - P. 1310-1316.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЕННОСТИ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ С ИНФЕКЦИЯМИ МОЧЕВОЙ СИСТЕМЫ И ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИХ ХРОНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ

Дранник Г.Н.2, Дриянская В.Е.1, Гайсенюк Ф.З.1, Степанова Н.М.1, Руденко А.В.2, Савченко В.С.2, Кругликов В.Т.1, Калинина Н.А.2, Корнилина Е.М.2, Лебедь Л.А.1, Лавренчук О.В.1, Сидоренко Е.В.1, Романенко О.А.1

ГУ «Институт нефрологии АМНУ»1;
ГУ «Институт урологии АМНУ»2

На основании исследований особенностей биоценоза мочеполовой системы и состояния иммунитета у больных с инфекциями мочево́й системы (пиелонефрит, цистит) предлагается концепция формирования их рецидивирующего течения.

Ключевые слова: инфекции мочево́й системы, состояние иммунитета, цитокины, пиелонефрит, цистит, микробные возбудители.

SUMMARY

PECULIARITIES OF IMMUNITY IN PATIENTS WITH URINARY TRACT INFECTION AND A POSSIBILITY MECHANISMS OF ITS CHRONIC CURRENT

Drannik G.2, Driyanskaya V. 1, Gaysenuk F. 1, Stepanova N. 1, Rudenko F. 2, Savchenko V.2, Kruglikov V. 1, Kalinina N. 2, Kornilina E. 2, Lebed L. 1, Lavrenchuk O. 1, Sydorenko E. 1, Romanenko O.1

Institute of Nephrology NAMS of Ukraine; Institute of Urology NAMS of Ukraine

Based on studying the specific biocoenosis of the urogenital system and the state of immunity in patients with urinary tract infections (pyelonephritis, cystitis) the conception of formation of their recurring course is proposed.

Key words: urinary tract infections, immunity state, cytokines, pyelonephritis, cystitis, microbe pathogens.