© Драннік Г.М., Дріянська В.Є., Степанова Н.М., Багдасарова І.В., Лавренчук О.В., Савченко В.С., Лебідь Л.О., 2018

УДК 616.65-002.2-008.8-078.7

ОСОБЛИВОСТІ СЕКРЕТОРНОГО ІНГІБІТОРУ ЛЕЙКОЦИТАРНИХ ПРОТЕАЗ У ХВОРИХ НА ІНФЕКЦІЇ СЕЧОВОЇ СИСТЕМИ, ЗМІНИ ПІД ВПЛИВОМ ТЕРАПІЇ

ДРАННІК Г.М.[2], ДРІЯНСЬКА В.Є.[1], СТЕПАНОВА Н.М.[1], БАГДАСАРОВА І.В.[1], ЛАВРЕНЧУК О.В.[1], САВЧЕНКО В.С.[2], ЛЕБІДЬ Л.О.[1], ГАЙСЕНЮК Ф.З.

ДУ «Інститут нефрології НАМН України»[1]; ДУ «Інститут урології НАМН України» [2]

Збільшення поширеності інфекцій сечової системи (ІСС) є важливою медико-соціальною проблемою, актуальність якої обумовлена, насамперед, збільшенням кількості хворих з латентним або рецидивуючим перебігом пієлонефриту (ПН), це є провідною медичною проблемою у більшості країн світу [4, 5].

Відомо, що одним з факторів імунного захисту є протеазно-антипротеазний баланс, важливу роль в якому грає секреторний ингібітор лейкоцитарних протеаз - secretory leucocyte protease inhibitor (SLPI). На інвазію мікроорганізмів організм реагує запальною реакцією, важливою частиною якої є поліморфноядерні гранулоцити, які продукують протеази, що спрямовані проти збудників інфекцій, в тому числі сечової системи. Активність протеаз регулюється їх ингібіторами - SLPI, які продукуться епітеліальними клітинами слизових, нейтрофілами і макрофагами для гальмування дії специфічних протеаз - катепсину G, еластази і трипсину з нейтрофілів, серіну з моноцитів, химази и триптази з тучних клітин [11, 13, 15]. Таким чином, SLPI є ендогенним антимікробним пептидом – важливим складовим захисної системи, який викликає лізіс мікроорганізмів і ефективний проти широкого спектру бактерій, грибів і вірусів [14].

SLPI – 11,7 кД неглікозілірований протеїн, що включає 107 амінокислот. В епітеліальних клітинах його продукція підвищується під впливом LPS, IL-1, TNF- , епідермального фактору росту, нейтрофільної еластази; протизапальний IL-10 здатний викликати продукцію SLPI в макрофагах, але більш повільно, ніж LPS [12, 17].

Вивчення особливостей показників цієї ланки як маркерів активації при запальних захворюваннях сечової системи, в тому числі динаміки під впливом терапії, представляє безперечний інтерес.

Основою лікування пацієнтів з ІСС, в тому числі пієлонефритом, є використання антибактеріальних лікарських засобів, які не завжди ефективні. Неефективність терапії таких хворих пов'язана, насамперед, з розвитком резистентності етіопатогенів або наявністю L-форм бактерій [10, 16]. До того ж, дослідники виявили аміноглікозиди, що частіше використовуються для лікування запалення в органах сечової системи, навіть в малих дозах, мають значний проапоптозний ефект, ускладнюючи процес репарації ниркової тканини та збільшення вірогідності розвитку нефросклерозу [9].

Використання імунотропних препаратів визнають особливо доцільним за умов рецидивуючих бактеріальних та вірусних інфекцій. Використанню імунокорекції у хворих на ІСС, в тому числі пієлонефрит, присвячено чимало робіт [2, 3, 8]. До її задач можна віднести стимуляцію фагоцитарної активності, нормалізацію балансу Т-клітинної ланки імунітету, стимуляцію інтерфероноутворення та синтезу неспецифічних факторів захисту та ін.

Аналіз даних літератури свідчить про те, що у хворих на пієлонефрит при використанні імунотропних препаратів відбуваються зміни в системі клітинного та гуморального імунітету, цитокіновій мережі, які корелюють із позитивним клінічним ефектом [2, 3, 8]. В той же час, ми знайшли небагато публікацій щодо особливостей SLPI у хворих на ІСС, в тому числі динаміки їх рівнів під впливом таких препаратів, які продемонстрували свої позитивні клініко-імунологічні ефекти [1, 2, 6-8].

Мета роботи – визначити особливості SLPI крові і сечі як учасників імуногенезу ІСС у дітей і дорослих та проаналізувати вплив імунотропних препаратів на цю ланку у хворих на пієлонефрит.

Матеріали і методи. Обстежено 55 дітей віком від 3 до 14 років (7,2±0,5), серед яких 10 з гострим (ГПН), 10 – загостренням хронічного і 28 – хронічним пієлонефритом (ХПН) в стадії ремісії, а також 7 – з циститом. Обстежено також 40 дорослих пацієнтів з ІСС, середній вік яких становив 32,3+4,3 років. Тривалість захворювання коливалась від 2 до 10 років і в середньому складала 6,5±1,5 роки; дослідження проводили до призначення антибактеріальної терапії. Дорослих хворих було поділено на 3 групи: I) 10 хворих на гострий пієлонефрит (ГП), II) 20 - хронічний неускладнений пієлонефрит (ХПН), III) 10 - хронічний цистит (ХЦ).

Діагноз пієлонефриту базувався на традиційних критеріях, що передбачало в кожному випадку збирання анамнезу, клінічної симптоматики, використання лабораторних, рентгенраді-

онуклідних, ультразвукових, реносцинтиграфічних, мікробіологічних методів дослідження.

За допомогою імуноферментного аналізу визначали рівні SLPI в сироватці крові і сечі, використовуючи тест-системи “Hycult biotechnology” Human SLPI (Нідерланди). Межі нормальних значень (референтний діапазон) були отримані на основі результатів дослідження 22 умовно здорових осіб (7 дітей та 15 дорослих).

Традиційна схема консервативного лікування, яку застосовували при лікуванні дорослих хворих, передбачала проведення антибактеріальної, дезінтоксикаційної та десенсибілізуючої терапії. 20 пацієнтів, які отримували антибактеріальну терапію відповідно результатам бактеріального посіву сечі (фторхінолони, цефалоспорини, нітрофурани), складали групу порівняння (1 гр). На фоні антибактеріальної терапії в 2 гр. (23 хворих) призначали Нуклеїнат 4 рази на добу у дозі 0,25 г 21 день; в 3 гр. (20 хворих) – Ґалавіт внутрішньом»язево по 0,1 г (2 мл) на добу через день № 10. В 4 гр. (20 пацієнтів з діагностично значущими титрами антитіл до ВПГ та/або ЦМВ) разом з антимікробною терапією додатково застосовували розчин Протефлазіду 3 рази на день за наступною схемою: на 1-й тиждень лікування по 5 крапель (0,2 мл), нанесеними на грудочку цукру або хліба, на 2 та 3-й тиждень – по 10 крапель (0,4 мл), на 4-й тиждень – по 8 крапель (0,3 мл).

Отримані дані оброблені статистично на персональному комп’ютері за допомогою пакета програм “SPSS for Windows. Версія 11” та “MedStat”. Для статистичної обробки використовувались параметричні критерії статистики - тест Ст’юдента або непараметричний – критерій Уілкоксона; для кореляційного аналізу – коефіцієнт Кендала. Достовірною вважали різницю при p<0,05.

Отримані результати та обговорення. Дослідження рівнів SLPI у дітей показали їх достовірне підвищення при ГПН та ХПН (як у разі загострення, так і ремісії) в крові (за винятком періоду ремісії при ХПН) та сечі (рис. 1).

Обстеження дітей, хворих на цистит, продемонструвало відсутність достовірної різниці за даними SLPI в сечі (p=0,268), тоді як середні показники в крові були підвищені – p=0,002. Порівняння з іншими групами дозволило виявити тенденцію до більш низького рівню SLPI в крові при циститах, ніж в групі з ГПН (p=0,080), від пацієнтів з ХПН незалежно від наявності/відсутності загострення показник не відрізнявся – відповідно, p= 0,984 та p=0,711. Рівень SLPI в сечі при циститах був достовірно нижчим, ніж у разі ГПН (p=0,031) та ХПН в стадії загострення (p=0,033), і не відрізнявся від такого у хворих з ХПН в стадії ремісії (p=0,353).

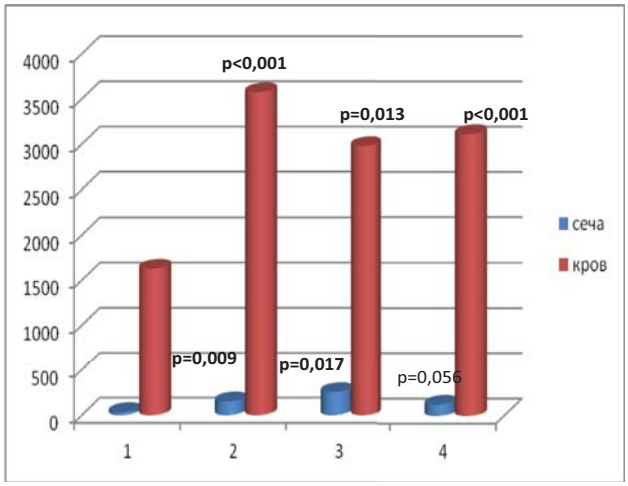
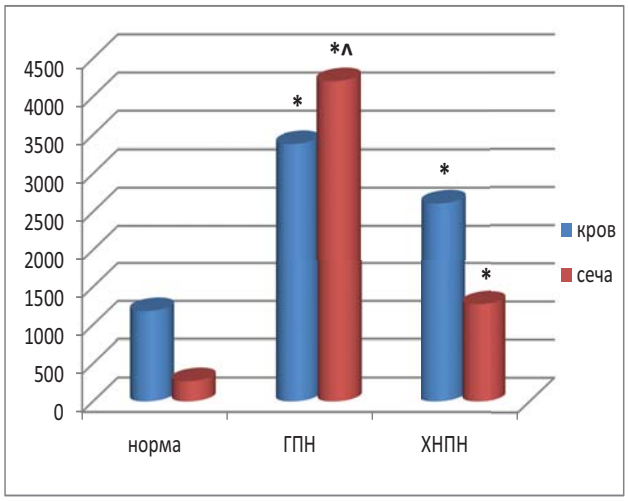


Рис. 1. Середній рівень SLPI у здорових дітей (1), хворих на ГПН (2), при загостренні ХПН (3) та в період ремісії ХПН (4).

Таким чином, можна вважати доцільним дослідження у дітей показників SLPI в крові і сечі як додаткових маркерів наявності ІСС, а також пієлонефриту в стадії загострення за даними підвищеного рівня цього показника в сечі.

Отримані дані у дорослих хворих на ІСС продемонстрували достовірне підвищення рівня SLIPI в порівнянні з нормою – 2463±152 та 1181±76 (P<0,001) в крові і 3535±183 та 269±18 (P<0,001) пкг/мл - в сечі. Індивідуальний аналіз даних показав, що рівень SLIP1 в сироватці крові був у межах від 1360 до 6185 пг/мл, в сечі від 1522 до 5265 пг/мл.

Рівень SLPI достовірно підвищений при обох формах пієлонефриту (p<0,001), при ГПН середні показники в сечі достовірно вище (в 2,5 рази, p<0,001), ніж при хронічному неускладненому пієлонефриті (ХНПН), в крові – тенденція до підвищення (p=0,066) при порівнянні груп (рис. 2).



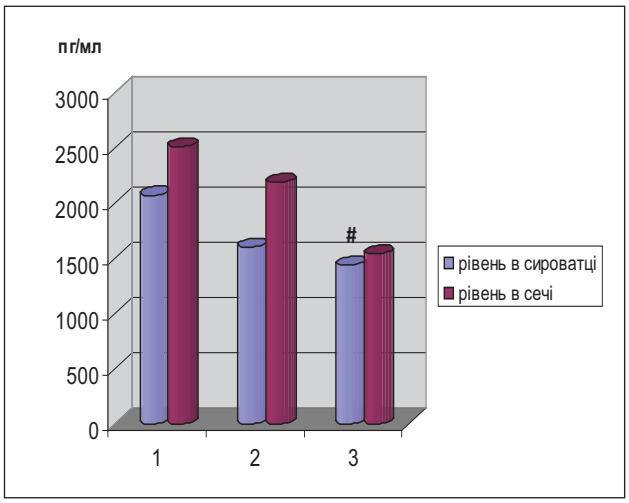
різниця достовірна при порівнянні: *- з нормою, ^ - між групами

Рис. 2. Середній рівень SLPI у хворих на ГПН і ХНПН в порівнянні з показниками здорових донорів

Рівень SLPI в сечі хворих на ГПН перевищував 2500 пкг/мл у 100% хворих, тоді як при ХПН – у 5% (p≤0,001). Можна заключити, що високий рівень SLPI є маркером запаленння при дослідженнях сироватки і сечі у хворих на ПН.

У хворих на цистит показники SLIPI в сечі вище, ніж при ХПН. Індивідуальний аналіз показав, що у 80% хворих на ХЦ рівень SLIPI перевищував 3500 пг/мл, а у 100% – перевищував рівень 3000 пг/мл, тоді як при ХПН лише у 10% хворих він перевищував 3000 пг/мл (3185 і 3160 п/мл) (P<0,05).

Дослідження SLPI, підвищених у хворих в крові і сечі, не виявило достовірних змін після лікування дорослих в 1 групі (рис. 3). Через рік після лікування середні показники SLPI в крові в 1 групі не відрізнялися від показників як до лікування, так і після курсу терапії (p>0,05); рівень в сечі достовірно знижувався в порівнянні з вихідними даними (p<0,05) (рис. 3).



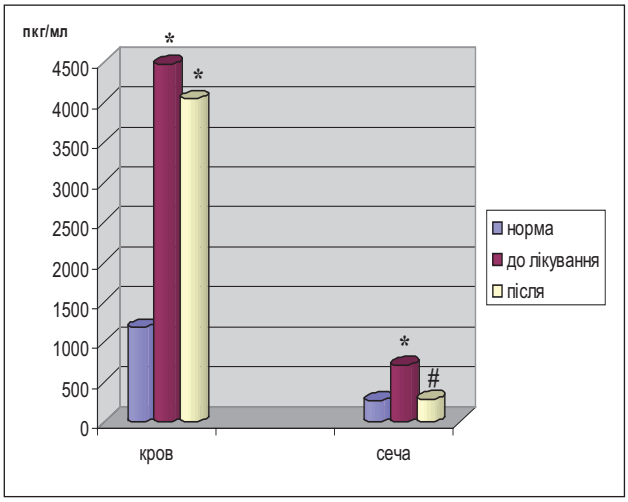
- різниця достовірна в порівнянні з даними до лікування

Рис. 3. Рівень SLPI в сироватці крові та сечі хворих 1 гр. до лікування (1), після курсу лікування (2) і через 1 рік (3).

На відміну від групи порівняння, після використання Нуклеїнату виявлено достовірне зниження показнипків SLPI в сечі; зміни в крові були недостовірними (рис. 4).

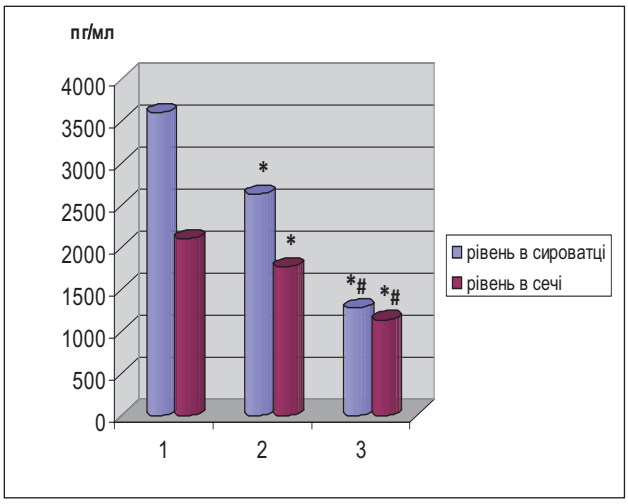
Після використання Галавіту рівень SLPI достовірно знизився в крові (p=0,023) і сечі (p=0,039) (рис. 5). Через рік після лікування з використанням Галавіту відбувалося достовірне зниження рівня SLPI як в крові, так і в сечі в порівнянні з такими показниками до (p=0,017 та p=0,048) і відразу після лікування (p=0,012 та p=0,012) (рис. 5).

Таким чином, дослідження показали, що використання Галавіту в комплексній терапії хворих на ПН сприяє достовірному зниженню рівня SLPI в крові і сечі, тоді як у хворих 1 гр. показники не змінювались після лікування. Обстеження хворих 3 гр. через 1 рік показало зниження рівня SLPI в сироватці крові та сечі в порівнянні з даними до та після курсу лікування, тоді як в групі порівняння за цей час відбулося зниження цього показника тільки в сечі, що є позитивним ефектом використання Галавіту у хворих на ПН.



*- різниця достовірна порівняно з нормою, # - до та після лікування

Рис. 4. Рівень SLPI у здорових донорів і хворих 2 гр. до та після лікування з використанням Нуклеїнату



* - різниця достовірна в порівнянні з даними до лікування; # - з даними після курсу лікування

Рис. 5. Рівень SLPI в сироватці крові та сечі хворих 3 гр. до лікування (1), після курсу лікування (2) і через 1 рік (3).

Дослідження не виявили достовірної динаміки SLPI у пацієнтів, що приймали Протефлазід – p=0,136 для крові та p=0,717 для сечі; через 1 рік після лікування рівень SLPI в крові достовірно знижувався (p=0,038) і не відрізнявся від норми (p>0,05), а в сечі не змінювався (p=0,280) і залишався високим (рис. 6).

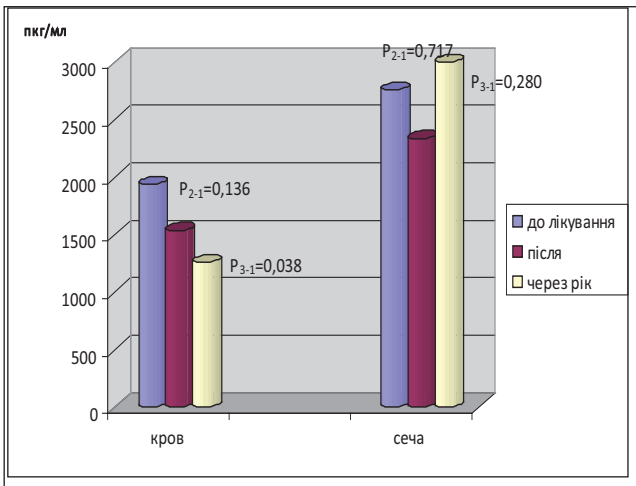


Рис. 6. Рівень SLPI в сироватці крові та сечі хворих 4 гр. до лікування (1), після курсу лікування (2) і через 1 рік (3).

Вважаємо, що використання Нуклеїнату і Галавіту, які за даними розробників стимулюють фагоцитоз та відновлюють функції клітин моноцитарно-макрофагальної ланки (в тому числі у разі їх високої активності з ризиком зниження резервного потенціалу), забезпечило більш ефективний протиінфекційний захист, внаслідок чого відбувалось зниження в сечі рівнів SLPI як маркерів запалення. Про позитивну дію Протефлазіду може свідчити достовірне зниження рівнів SLPI в крові через рік після лікування.

Таким чином, дослідження SLPI крові і сечі інформативні для хворих на ІСС, в сечі дітей виявлено найбільш високі показники у разі ГПН, а у дорослих – при циститі в порівнянні з ХПН, що можна використовувати для диференційної діагностики.

Після курсу лікування з використанням імунотропних препаратів відбувалось достовірне зниження рівнів SLPI в сечі, які були нижче фонових (так само як і показники в крові) при обстеженні через 1 рік, тоді як у хворих після антибактеріальної терапії через 1 рік знижувався цей показник в сечі, а в крові залишався високим, що підтверджує доцільність запропонованих схем лікування хворих на ПН.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Андріюк Л. В.* Від нуклеїнових кислот до препарату Нуклеїнат / Л. В. Андріюк // Новости медицины и фармации. – 2007. – Т. 220, № 14. – С. 16–20.
2. Галавит. Клиническое использование и механизмы действия. – М.: Внешторгиздат, 2002. – 98 с.
3. *Дадабаева Р. К.* Коррекция иммуномодулином нарушений иммунитета у женщин фертильного возраста, больных хроническим пиелонефритом / Р. К. Дадабаева, А. Г. Гадаев, И. А. Ибрагимов // Нефрология. – 2000. – Т. 4, № 3. – С. 58-61.
4. *Дядык А. И.* Инфекции почек и мочевыводящих путей / А. И. Дядык, Н. А. Колесник. – Д.: КП «Регион», 2003. – 400 с. – ISBN 966-7696-63-4.
5. *Колесник М. О.* Діагностика і лікування інфекцій сечової системи з позицій доказової медицини / М. О., Колесник, Н. М. Степанова // Укр. Журнал нефрології та діалізу. – 2006. - № 2 (10). – С. 45-49.
6. *Малевич М. П.* Інтерферонмодулююча та апоптозомодулююча активність препарату Протефлазід / М. П. Малевич, С. Т. Дюдюн, С. Л. Рибалко [та ін.] // Вісн. Вінницького державного медичного університету. - 2002. - № 6 (2). - С. 281-284.
7. *Марусик У. І.* Вплив нуклеїнату на показники активності нейтрофілів та еозинофілів крові школярів, хворих на бронхіальну астму / У. І. Марусик // Імунологія та алергологія. – 2008. - № 3. – С. 53-54.
8. *Усовецкий И. А.* Применение нового иммуномодулятора Галавита в лечении урогенитальных инфекций / И. А. Усовецкий // Terra Medica. – 2004. – № 2. – С. 45-47.
9. *Aronoff G. R.* The Bennett Tables – Drug Prescribing in Renal Failure / G. R. Aronoff, M. E. Brier, J. S. Bems. - Philadelphia, 2001. – 56 p.
10. *Guilhelmelli F.* Antibiotic development challenges: The various mechanisms of action of antimicrobial peptides and of bacterial resistance / F. Guilhelmelli [et al.] // Front. Microbiol. – 2013. - N 4. – P. 353-355.
11. *Heimlich Derek R.* Host Antimicrobial Peptides in Bacterial Homeostasis and Pathogenesis of Disease / Derek R. Heimlich, Alistair Harrison and Kevin M. Mason // Antibiotics. – 2014. - № 3. – P. 645-676.
12. *Jin F.* Lipopolysaccharide-related stimuli induce expression of the secretory leukocyte protease inhibitor, a macrophage-derived lipopolysaccharide inhibitor / F. Jin [et al.] // Infrect. Immunol. – 2005. - V. 66. – P. 2447-2452.
13. *Levy O.* Antimicrobial proteins and peptides: anti-infective molecules of mammalian leukocytes / O. P. Levy // J. Leukocyte Biol. – 2004. – Vol. 76. – P. 909–925.
14. *Majchrzak-Gorecka M.* Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI), a multifunctional protein in the host defense response / M. Majchrzak-Gorecka [et al.] // Cytokine Growth Factor Rev. – 2016. – P. 79-93.
15. *Subramaniyam D.* Secretory leukocyte protease inhibitor inhibits neutrophil apoptosis / D. Subramaniyam, C. Hollander, U. Westin [et al.] // Respirology. – 2011. – Vol. 16. - №2. – P. 300-307.

16. *Tamaki K.* Chronic pyelonephritis: Pathogenesis, pathophysiology, and therapy / K. Tamaki, T. Kusumoto, S. Okuda // Nippon Rinsho. – 2006. – Vol. 64, Suppl 2. – P. 485-488.
17. *Williams S. E.* SLPI and elafin: one glove, many fingers / S. E. Williams [et al.] // Clinical Science. – 2006. – 110. – P. 21-35.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЛИВОСТІ СЕКРЕТОРНОГО ІНГІБІТОРУ ЛЕЙКОЦИТАРНИХ ПРОТЕАЗ У ХВОРИХ НА ІНФЕКЦІЇ СЕЧОВОЇ СИСТЕМИ, ЗМІНИ ПІД ВПЛИВОМ ТЕРАПІЇ

Драннік Г.М.[2], Дріянська В.Є.[1], Степанова Н.М.[1], Багдасарова І.В.[1], Лавренчук О.В.[1], Савченко В.С.[2], Лебідь Л.О.[1], Гайсенюк Ф.З.

ДУ «Інститут нефрології НАМН України»[1];
ДУ «Інститут урології НАМН України»[2]

Вступ. SLPI приймає участь в реалізації протиінфекційного імунітету, в зв»язку з чим представляє інтерес вивчення його ролі в імуногенезі інфекцій сечової системи (ІСС) і динаміки після лікування.

Мета роботи – визначити особливості рівнів SLPI крові і сечі як учасників імуногенезу ІСС у дітей та дорослих, проаналізувати вплив імунотропних препаратів на цю ланку у хворих на пієлонефрит.

Матеріали і методи дослідження. Досліджували рівні SLPI в крові і сечі за допомогою імуноферментного методу ELISA і тест-систем “Hycult biotechnology” Human SLPI (Нідерланди) .

Результати. У дітей та дорослих з ІСС виявлено підвищення рівнів SLPI, показані їх особливості в крові і сечі у разі ГПН, ХПН і циститу. Сполучення у дорослих пацієнтів з ПН антибактеріальної терапії з Галавітом призводить до позитивних змін SLPI в крові і сечі, а з Нуклеїнатом - в сечі.

Заключення. Показана участь SLPI в імуногенезі ІСС, позитивна динаміка після імуномодуляторів свідчить про доцільність їх використання в комплексній терапії для підвищення ефективності лікування хворих на пієлонефрит та запобігання погіршенню функції нирок при ХПН.

Ключові слова: інфекції сечової системи, інгібітор секреторних лейкопротеаз, пієлонефрит, імуномодулятори.

РЕЗЮМЕ

ОСОБЕННОСТИ СЕКРЕТОРНОГО ИНГИБИТОРА ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ПРОТЕАЗ У БОЛЬНЫХ С ИНФЕКЦИЯМИ МОЧЕВОЙ СИСТЕМЫ, ИЗМЕНЕНИЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ ТЕРАПИИ

Дранник Г.Н.[2], Дриянская В.Е.[1], Степанова Н.М.[1], Багдасарова И.В.[1], Лавренчук О.В.[1], Савченко В.С.[2], Лебедь Л.А.[1], Гайсенюк Ф.З.

ГУ «Институт нефрологии НАМН Украины»[1];
ГУ «Институт урологии НАМН Украины»[2]

Вступление. SLPI принимает участие в реализации противоинфекционного иммунитета, в связи с чем представляет интерес. изучение его роли в иммуногенезе инфекций мочевой системы (ИМС) и динамики после лечения.

Цель работы – определить особенности уровней SLPI крови и мочи как участников иммуногенеза ИМС у детей и взрослых и проанализировать влияние иммунотропных препаратов на это звено у больных пиелонефритом.

Материалы и методы исследования. Исследовали уровни SLPI в крови и моче с помощью иммуноферментного метода ELISA и тест-систем “Hycult biotechnology” Human SLPI (Нидерланды) .

Результаты. У детей и взрослых с ИМС выявлено повышение уровней SLPI, показаны их особенности в крови и моче при ОПН, ХПН и цистите. Сочетание у взрослых пациентов с ПН антибактериальной терапии с Галавитом приводит к позитивным изменениям SLPI в крови и моче, а с Нуклеинатом - в моче.

Заключение. Показано участие SLPI в иммуногенезе ИМС, позитивная динамика после иммуномодуляторов свидетельствует о целесообразности их использования в комплексной терапии для повышения эффективности лечения больных с пиелонефритом и предупреждения ухудшения функции почек при ХПН.

Ключевые слова: инфекции мочевой системы, ингибитор секреторных лейкопротеаз, пиелонефрит, иммуномодуляторы.

SUMMARY

PECULIARITIES OF SECRETORY LEUCOCYTE PROTEINASE INHIBITOR IN PATIENTS WITH URINARY TRACT INFECTIONS AND DINAMICS AFTER THERAPY

Drannik G.[2], Driianska V.[1], Stepanova N.[1], Bagdasarova I.[1], Lavrenchuk O.[1], Savchenko V.[2], Lebed L.[1], Gaisenuk F.

Institute of Nephrology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine[1]; Institute of Urology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine[2]

Introduction. The SLPI participate in antiinfective immunity, that is why it is necessary study their peculiarities in determination of the role in the immunogenesis of urinary tract infections (UTI) and efficiency of treatment.

The purpose of the work is to study the levels of SLPI as the participant of immunogenesis of UTI in children and adults and to prove expediency of immunotherapy on this link in the patients with pyelonephritis.

Materials and methods. The immuno-enzymic method ELISA and the “Hycult biotechnology Human SLPI” (Netherlands) were used to study the levels of SLPI in blood ann urine.

Results. The peculiarities of the high levels of SLPI in children and adults with acute (APN), chronic (ChPN) pyelonephritis (PN) and cystitis are shown. The combination of antibacterial therapy with Galavit promotes the positive changes of SLPI in blood and urine, and Nukleinat – in urine.

Conclusion. The role of SLPI in immunogenesis of UTI are shown, positive dynamics after immunomodulators testify to the expediency of this usage in complex therapy for improvement of the effective treatment and the protection against aggravation of kidney functioning in ChPN.

Key words: urinary tract infections, SLPI, pyelonephritis, immunomodulators.