

© Король Л.В., Степанова Н.М., Мігаль Л.Я., 2016

УДК 616.61-002.2-036.87:577.112

Л.В. КОРОЛЬ, Н.М. СТЕПАНОВА, Л.Я. МІГАЛЬ

**СПЕЦИФІЧНІ ЗАПАЛЬНІ ПРОТЕЇНИ КРОВІ ТА СЕЧІ ХВОРИХ НА ПІЄЛОНЕФРИТ З РЕЦИДИВУЮЧИМ ПЕРЕБІГОМ**

*L. KOROL, N. STEPANOVA, L. MIGAL*

***SPECIFIC INFLAMMATORY PROTEINS IN THE BLOOD AND URINE OF PATIENTS WITH RECURRENT PYELONEPHRITIS***

Державна установа «Інститут нефрології НАМН України», м. Київ

*SI "Institute of Nephrology NAMS of Ukraine", Kyiv*

**Ключові слова:** *C-реактивний протеїн, фібронектин, цистатин-С, пієлонефрит з рецидивуючим перебігом.*

**Key words:** *C-reactive protein, fibronectin, cystatin C, recurrent pyelonephritis.*

**Резюме.** *Метою роботи було дослідити вміст специфічних запальних протеїнів (C-реактивний білок, фібронектин, цистатин С) у крові та сечі хворих на пієлонефрит залежно від частоти рецидивів захворювання.*

*Пацієнти та методи.* В одномоментне поперечне дослідження було включено 64 хворих на хронічну хворобу нирок I-II стадії: неускладнений пієлонефрит жіночої статі, віком від 24 до 57 років (у середньому 32,3±9 років). Імунотурбідиметричним методом за допомогою тест систем «Dialab» (Австрія) у крові та сечі пацієнток

*визначали рівень C-реактивного білку (СРБ), фібронектину (ФН) та цистатину С (ЦС). I – основну групу (n=34) склали жінки з рецидивуючим перебігом пієлонефриту (≥ 3 рецидивів протягом року), II – (n=30) пацієнтки спорадичним перебігом захворювання (до 2 разів на рік).*

**Степанова Наталя Михайлівна**  
**nmstep@ukr.net**

**Результати.** У жінок з рецидивуючим перебігом пієлонефриту, у порівнянні зі спорадичним, спостерігалось зниження концентрації ФН у крові ( $p=0,01$ ) зі зростанням рівня його екскреції ( $p=0,01$ ) та підвищення вмісту цистатину С у крові ( $p=0,02$ ). Концентрація ФН крові зворотно залежала від частоти рецидивів захворювання ( $r=-0,42$ ;  $p=0,007$ ), тоді як ФН сечі мав прямий кореляційний взаємозв'язок з рівнем ЦС крові.

**Висновки.** Зниження вмісту ФН та зростання ЦС у крові хворих на пієлонефрит з рецидивуючим перебігом є наслідком часткої активності запального процесу та негативними прогностичними критеріями пошкодження нирок. Визначення специфічних запальних протеїнів у крові та сечі хворих на пієлонефрит може бути використано у якості альтернативних маркерів діагностики та моніторингу захворювання.

**Resume.** The aim of our study was to investigate the content of specific inflammatory proteins (C-reactive protein, fibronectin, cystatin C) in the blood and urine of patients with pyelonephritis, depending on the frequency of recurrences.

**Patients and methods.** A cross-sectional study was carried out and included 64 female patients with uncomplicated pyelonephritis, over 18 years (mean  $32.3 \pm 9$  years). We determined C-reactive protein (CRP), fibronectin (FN), and cystatin C (CysC) in the blood and urine of patients using test kits «Dialab» (Austria) by immunoturbidimetric method. After the examination patients were divided into II groups: I ( $n = 34$ ) – women with recurrent pyelonephritis and II ( $n = 30$ ) – patients with sporadic pyelonephritis (up to 2 times per year).

**Results.** The patients of group I showed the highest level of blood concentrations of CysC ( $p = 0.02$ ) and a decrease of FN ( $p = 0.01$ ). We found an inverse correlation between the number of recurrences of pyelonephritis per year and the blood level of FN ( $r = -0.42$ ,  $p = 0.007$ ). In addition, we determined a strong direct correlation between the urinary FN and blood level of CysC ( $r = 0.6$ ,  $p < 0.0001$ ).

**Conclusions.** Decrease of FN and growth of CysC in the blood of patients with recurrent pyelonephritis is the result of frequent inflammatory activity. Determination of specific inflammatory proteins in the blood and urine of patients with pyelonephritis can be used as alternative markers for diagnosis and monitoring of disease.

**ВСТУП.** У розвитку запальної реакції будь-якого генезу та попередженні її можливих ускладнень приймають участь близько 30 протеїнів під загальною назвою «білки гострої фази» (БГФ) або «адаптивні білки» [1, 16]. Незважаючи на свою назву, вони супроводжують як гострі, так і хронічні запальні стани, пов'язані з широким патологічним спектром, у тому числі й інфекціями [15]. До білків гострої фази належать протеїни, концентрація яких у сироватці крові під час запалення збільшується або зменшується не менш ніж на 25 відсотків [16]. Такі білки називаються позитивними або негативними, відповідно. Їх концентрація у плазмі крові та інших біологічних рідинах організму суттєво залежить від вогнища запалення та перебігу захворювання, що і визначає цінність цих маркерів для клінічної лабораторної діагностики [12, 15, 16]. До позитивних належать: С-реактивний білок (СРБ), сироватковий амілоїд А і сироватковий амілоїд Р, ліполісахарид-зв'язуючий білок,  $\alpha 1$ -кислий глікопротеїн, фібриноген, гаптоглобін, церулоплазмін, ряд факторів комплементу, а також численні протеїнази та їх інгібітори [12, 15, 16]. До числа негативних реактантів відносять преальбумін, альбумін, трансферин, фібронектин, ліпопротеїди низької і дуже низької щільності [12, 16]. Основними продуцентами сироваткових білків гострої фази є гепатоцити. Їх відповідь на цитокіни характеризується посиленням продукції позитивних і зниженням продукції негативних реактантів [15].

На сьогодні накопичені численні дані щодо важливої патогенетичної ролі БГФ в ініціації та прогресуванні запалення та доведена їх інформативність для ранньої діагностики гострої бактеріальної інфекції [10, 12]. Проте, хронічний запальний процес, у тому числі й рецидивуючий пієлонефрит, може сприйматися як послідовний

ряд окремих запальних стимулів, а відповідь на хронічне, у порівнянні з гострим, запаленням може варіювати від одного білка до іншого [10, 12, 15]. У сучасній науковій літературі не існує даних щодо концентрації позитивних та негативних БГФ у хворих на хронічний пієлонефрит з рецидивуючим перебігом. У цьому зв'язку нашу увагу привернули СРБ, фібронектин (ФН) та цистатин С (ЦС).

Дослідження СРБ у плазмі/сироватці крові широко використовується у клінічній практиці в якості раннього і чутливого індикатора запальної відповіді. СРП відносять до «головних» білків гострої фази: його концентрація у разі бактеріальної інфекції стрімко і значно зростає (у 20-1000 разів), тоді як у здорової людини рівень СРП плазми крові знаходиться у слідових кількостях [2, 5, 6, 12]. Згідно традиційним уявленням синтез СРБ ініціюють численні чинники: антигени бактеріальної, вірусної, грибкової, паразитарної, пухлинної природи, імунні комплекси, продукти пошкодження тканин, токсини та ін. [5, 16]. Основна біологічна і життєво важлива функція СРБ, як і усіх білків гострої фази – знищення патогенних чинників в осередках ураження і відновлення функціональних і структурних порушень [6, 10]. На сьогодні є доведеним, що СРБ є не тільки чутливим маркером запалення, але і відіграє важливу роль у патогенезі й прогресуванні процесів судинного ураження, виникнення та дестабілізації атеросклеротичних бляшок та тромботичної оклюзії судин [1, 5, 16].

ФН – великий, позаклітинний глікопротеїн з високою молекулярною масою, що складається з двох практично ідентичних поліпептидних ланцюгів (кожна по 220 кДа) та бере участь у здійсненні захисних реакцій організму. ФН синтезується і секретується печінкою, його концентрація у кровотоці складає приблизно 330 мкг на мл плазми [7,

15]. ФН – негативний гострофазовий білок, що синтезується макрофагами і клітинами печінки, який взаємодіє з молекулярними шаблонами грам-позитивних мікроорганізмів, а також з низкою суб-станцій, які вивільняються у зонах некрозу або запалення, наприклад, з нативним і денатурованим колагеном, фібриногеном і фібрином, гепарином або денатурованою ДНК [15, 16]. Крім того, ФН забезпечує непроникність тканин для мікроорганізмів, а продукти його розщеплення виступають у ролі хемоаттрактантів для фагоцитів, які формують обмежувальний вал навколо вогнища запалення [7]. Саме тому за умов бактеріальної інфекції відзначається деяке зниження концентрації ФН у сироватці крові, причому її різке зменшення свідчить про високий ризик генералізації інфекції і розвитку сепсису [10, 12, 15].

ЦС – важливий екстрацелюлярний інгібітор цистеїнових протеїназ з постійним біосинтезом, що синтезується практично усіма ядромієськими клітинами [3, 8, 14]. У людини ЦС виявлений в усіх біологічних рідинах, висока концентрація відмічена у спинномозковій рідині, еякуляті, молоці [8, 18]. Рівень ЦС є стабільним у системній циркуляції і мало залежить від різних чинників [13]. Незмінність продукції ЦС оберігає організм від неконтрольованої активації протеолізу. Важливим місцем катаболізму білку і дії ЦС є нирки, де він вільно фільтрується в клубочках і не секретується у канальцях, що зумовило його клінічне значення як раннього маркера пошкодження нирок [11, 14, 16-18]. Проте, останні дослідження демонструють його клінічну значущість не тільки для визначення функції нирок. Експериментально доведена участь ЦС у антиген-презентації, метастазуванні пухлин, зокрема Са простати та блокуванні інвазії патогенів [18].

Таким чином, виходячи з функцій даних протеїнів та їх ролі у реалізації запальних процесів актуальним є дослідження вмісту СРБ, ФН та ЦС у крові та сечі жінок з рецидивуючим пієлонефритом.

**МЕТОЮ** роботи було дослідити вміст специфічних запальних протеїнів (СРБ, ФН, ЦС) у крові та сечі хворих на пієлонефрит залежно від частоти рецидивів захворювання.

**ПАЦІЄНТИ ТА МЕТОДИ.** В одномоментне поперечне дослідження було включено 64 хворих на хронічну хворобу нирок I-II стадії: неускладнений пієлонефрит жіночої статі, віком від 24 до 57 років (у середньому 32,3±9 років). Тривалість захворювання коливалася від півроку до 16 років та у середньому становила 6,0±4,1 років.

Усі пацієнтки надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні.

Критеріями включення пацієнток до дослідження були: наявність клінічних ознак захворювання (дизурія, часте сечовипускання, підвищення температури тіла, відчуття болю та важкості у крестово-поясному куті та інші), лейкоцитурія та бактеріурія.

Критеріями виключення були: відмова хворої від участі у дослідженні, вагітність та період лактації, ознаки обструкції сечової системи, зниження швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) <60 мл/хв.

Окрім загальних клініко-лабораторних та культуральних досліджень у крові та сечі пацієнток визначали рівень запальних специфічних білків СРБ, ФН та ЦС імунотурбідиметричним методом за допомогою тест систем «Dialab» (Австрія) [4].

Для аналізу хворі були розподілені за частотою рецидивів хронічного пієлонефриту. I – основну групу (n=34) склали жінки з рецидивуючим перебігом пієлонефриту (≥ 3 рецидивів протягом року), II – (n=30) пацієнтки спорадичним перебігом захворювання (до 2 разів на рік). Середня кількість рецидивів протягом року у пацієнток основної групи становила 6,3±3,8, тоді як II – 1,25±0,44 рік (p<0,001). Групи були ідентичними за віком хворих, етіологічними чинниками захворювання та його тривалістю.

Результати порівнювали з контрольними даними, отриманими під час обстеження 30 умовно-здорових осіб.

Статистичну обробку отриманих результатів проведено на персональному комп'ютері за допомогою програм «Statistica 10,0 for Windows» та «MedCalc» з урахуванням перевірки показників на нормальний розподіл з використанням критерію Колмогорова-Смірнова (dK-S). За умов нормального розподілу оцінювали середні значення показників (M) та середнє квадратичне відхилення (SD); для їх порівняння використовували критерій Ст'юдента (tS). За невідповідності закону нормального розподілу для опису ознаки застосовували медіану (Me) та інтерквартильний розмах [Q25-Q75]; для порівняльного аналізу застосовували непараметричний (U-критерій) Манна-Уїтні.

Кореляційний зв'язок кількісних показників рівнів цитокінів, за умов їх нормального розподілу, визначали за методом Пірсона (r). Кореляційний аналіз за Спірменом (ρ) та/або Кендаллом (τ) використовували у разі відсутності нормального розподілу показників. Для визначення різниці між двома пропорціями використовували імовірний калькулятор програми «Statistica 10,0 for Windows», достовірною вважали різницю за p<0,05 [9].

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.** Вміст СРБ у сироватці крові обстежених пацієнток був достовірно вищим за показники умовно-здорових донорів (11,2 [4,8-16,3] проти 1,7 [0,8-3,6] мг/л; p<0,01), але не відрізнявся у порівнянні залежно від частоти рецидивування пієлонефриту (8,1 [3,7-10,2] проти 6,5 [3,3-9,1] мг/л, відповідно до I та II групи; p=0,86). СРБ у сечі визначався лише у 24/64 (37,5%) хворих на пієлонефрит та у середньому становив 6 [1-12] мг/л. Аналіз СРБ сечі залежно від частоти рецидивів пієлонефриту продемонстрував, що у пацієнток I групи у двічі частіше визначались підвищені концентрації СРП (до 24-30 мг/л), порівняно зі спорадичним перебігом пієлонефриту.

Дослідження ФН та ЦС у сироватці крові продемонструвало незначне їх коливання у межах фізіологічної норми (200-400 мг/л для ФН та 0,40-1,1 мг/л для ЦС), (рис. 1, 2).

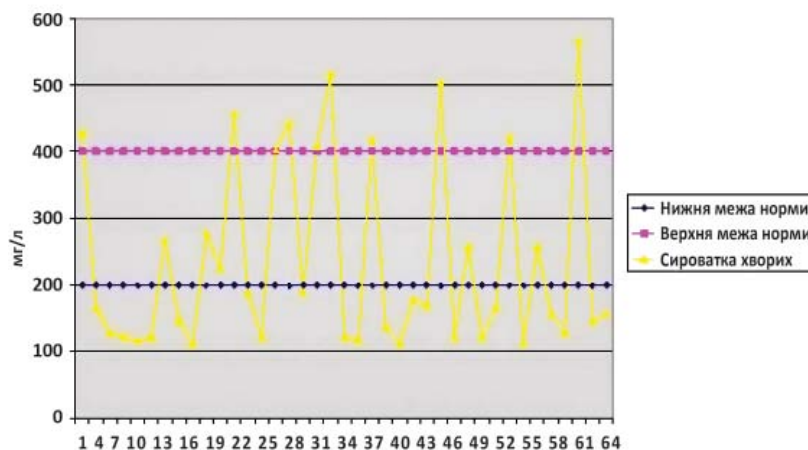


Рис. 1. Коливання ФН у сироватці крові хворих на ПН.

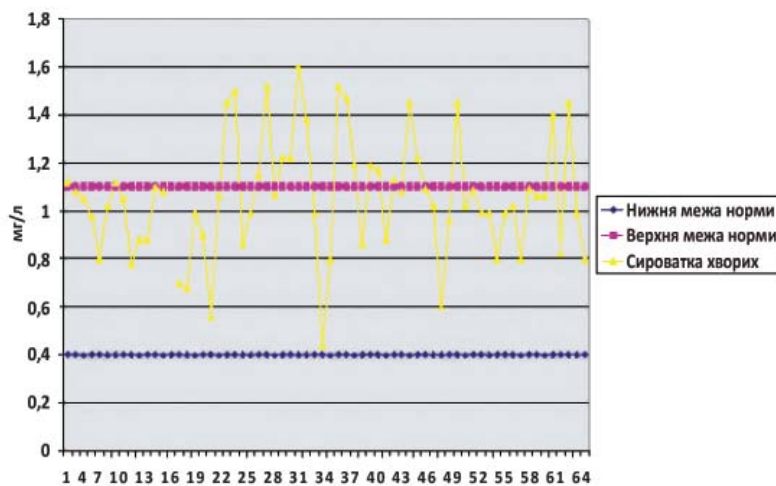


Рис. 2. Коливання ЦС у сироватці крові хворих на пієлонефрит.

Вміст ФН у сироватці крові хворих з рецидивуючим перебігом пієлонефриту був достовірно нижчим за показники II групи ( $152 \pm 84$  проти  $386,3 \pm 105$  мг/л;  $p=0.001$ ), (рис. 3).

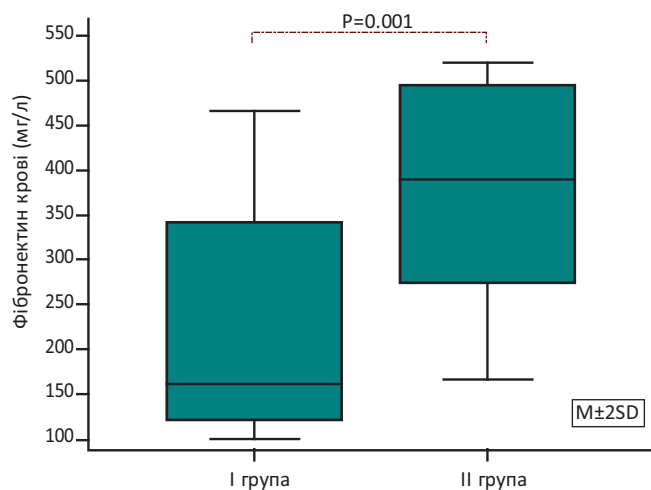


Рис. 3. Вміст ФН у сироватці крові хворих на пієлонефрит залежно від кількості рецидивів протягом року.

Рівень ЦС у сироватці крові хворих на рецидивуючий пієлонефрит, навпаки, був достовірно ви-

щими ніж за спорадичного перебігу захворювання ( $1,1 \pm 0,25$  проти  $0,96 \pm 0,2$  мг/л;  $p=0,02$ ), (рис. 4).

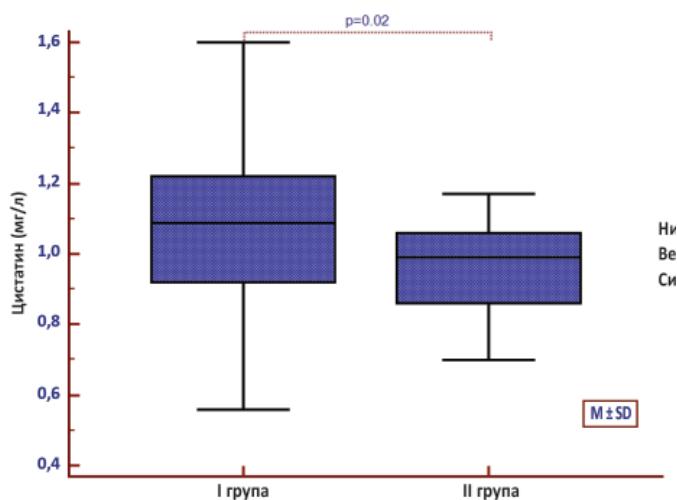


Рис. 4. Вміст ЦС у сироватці крові хворих на пієлонефрит залежно від кількості рецидивів протягом року.

Дослідження зазначених протеїнів у сечі обстежених жінок визначило збільшення екскреції ФН у 26/64 (41%) пацієток та ЦС у 36/64 (57%) пацієток (рис 5).

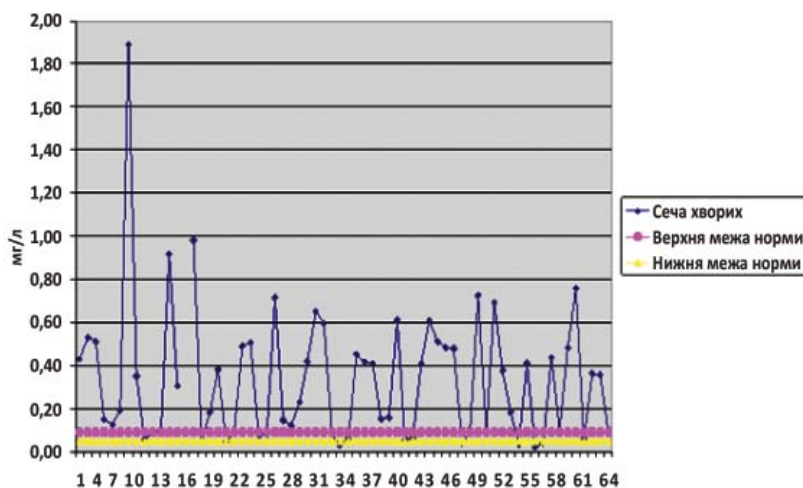


Рис. 5. Коливання ЦС у сечі крові хворих на пієлонефрит.

Середній рівень екскреції ФН з сечею у пацієнток I групи склав 216,5 [135-290] мг/л, тоді як

у хворих II групи – 143,5 [110-183] мг/л,  $p=0,01$  (рис.6).

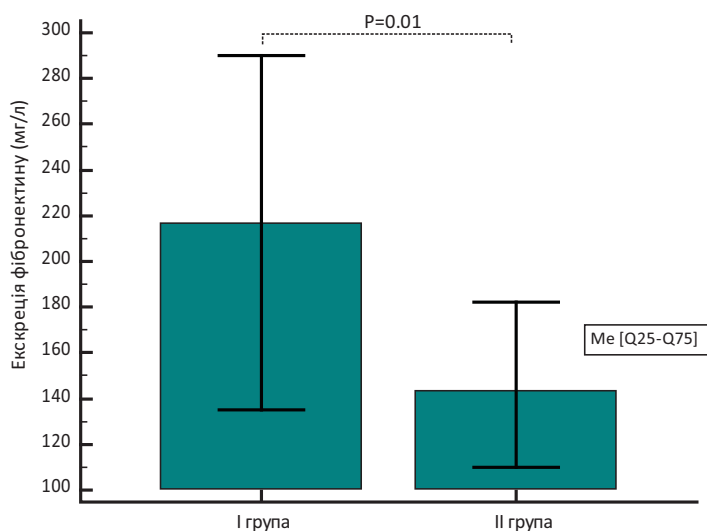


Рис. 6. Екскреція ФН з сечею залежно від частоти рецидивів пієлонефриту.



Ми припускаємо, що низькі рівні екскреції ФН у частини пацієнток з рецидивуючим перебігом піелонефриту обумовлені зміною фізико-хімічних властивостей базальної мембрани і її проникністю, з проліферацією і активацією мезангіальних і ендотеліальних клітин. Підвищення концентрації ФН у сечі може бути пов'язано з посиленням руйнуванням базальної мембрани, до складу якої входить і ФН [7, 15].

Крім того, нами був встановлений зворотній кореляційний зв'язок між вмістом ФН у сироватці крові та частотою рецидивів піелонефриту (рис. 7) та прямий кореляційний зв'язок між рівнями ЦС крові і ФН сечі (рис. 8).

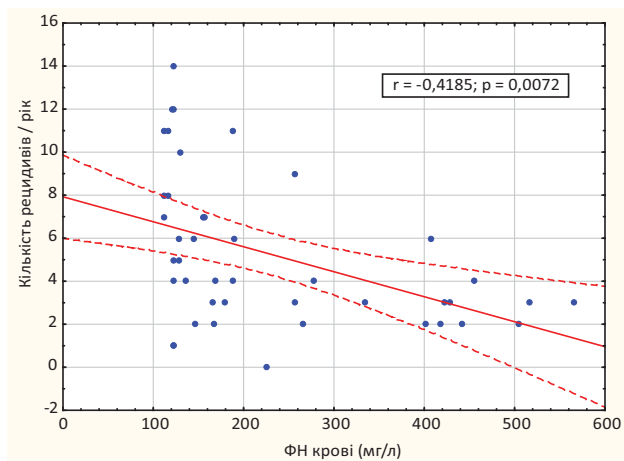


Рис. 7. Кореляційний зв'язок між вмістом ФН крові та частотою рецидивів піелонефриту.

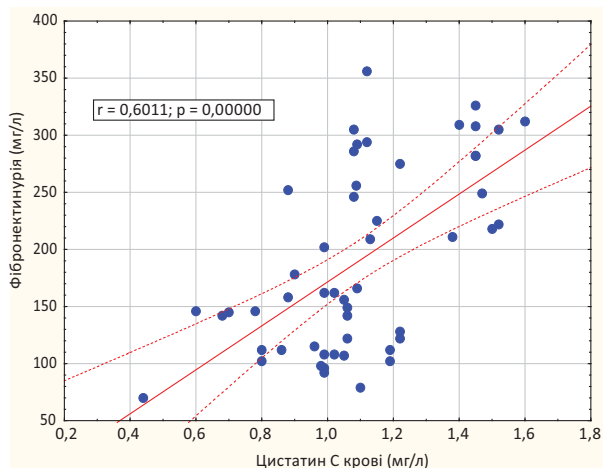


Рис. 8. Кореляційний зв'язок ФН сечі та ЦС крові хворих на піелонефрит.

**ВИСНОВКИ.** У жінок з рецидивуючим перебігом піелонефриту, у порівнянні зі спорадичним, спостерігається зниження концентрації ФН у крові ( $p=0,01$ ) зі зростанням рівня його екскреції ( $p=0,01$ ) та підвищення вмісту цистатину С у крові ( $p=0,02$ ), що є наслідком частоті активності запального процесу. Концентрація ФН крові зворотно залежить від частоти рецидивів захворювання ( $r=-0,42$ ;  $p=0,007$ ), тоді як ФН сечі має прямий коре-

ляційний взаємозв'язок з рівнем ЦС крові ( $r=0,6$ ;  $p<0,0001$ ). Зростання ЦС у крові та підвищення екскреції ФН з сечею є негативними прогностичними критеріями рецидивуючого перебігу піелонефриту, що може бути використано для діагностики та моніторингу захворювання.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Горин В. С. Прогностическая значимость белков острой фазы воспаления в неотложной гинекологии / Горин В. С., Кондранина Т. Г., Потехина Н. Г. // Сиб. мед. журн. (Иркутск). – 2012. – №5. – С. 18-23.
2. Діагностична цінність С-реактивного білка в неонатальній практиці / Бондаренко М. П., Орловська І. Ю., Бондаренко М. Ю. та ін. // Здоровье ребенка. – 2010. – №2. – С. 23–31.
3. Каюков И.Г. Цистатин в современной медицине / И.Г. Каюков, А.В. Смирнов, В.Л. Эмануэль // Нефрология. - 2012. - Т.16, №1. - С. 22-39.
4. Король Л. В. Біохімічні методи оцінки оксидативного статусу у хворих на хронічну хворобу нирок: Методичні рекомендації / Л.В. Король, Л.Я. Мигаль, Г.Г. Нікуліна, М.О. Колесник. – Київ, 2013. – 30с.
5. Ліснянська І. С. Обґрунтування застосування цинку сульфату у комплексному лікуванні хворих на хронічний піелонефрит : дис.. канд.. мед. наук : 14.01.37 / І. С. Ліснянська – К., 2014. – 151 с.
6. Ліснянська І.С. Одночасний моніторинг С-реактивного білка в крові та сечі – новий напрямок в діагностиці і прогнозуванні захворювань нирок / І. С. Ліснянська, Р. І. Яцишин, Н. М. Коваль, В. Я. Камінський, О. В. Мазур // Укр. журнал нефрології та діалізу. – 2011. - №3. – С. 30-33.
7. Мухин И.В. Содержание фибронектина в моче как критерий эффективности лечения больных хроническим гломерулонефритом / И.В. Мухин // Клиническая лабораторная диагностика – 2001. – N. – 4. – С. 53-55.
8. Пашкова Ю.В. Значение определения сывороточной концентрации цистатина С при инфекции мочевой системы у детей / Ю. В. Пашкова, В. П. Ситникова // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2013. – Выпуск № 18. – Т. 23. – С. 87-95.
9. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М.: Медиасфера, 2003. – 312 с.
10. Ahmed M. S. Acute Phase Reactants as Novel Predictors of Cardiovascular Disease / Ahmed M. S., Jadhav A. B., Hassan A., and Qing H. Meng [Електронний ресурс] // ISRN Inflammation. – 2012. – P. 18 : URL : <http://www.hindawi.com/journals/isrn/2012/953461/cta/>
11. Cystatin C as a marker of GFR - history, indications, and future research / G. Filler [et al.] // Clin. Biochem. – 2005. – Vol. – 38 (1). – P. 1-8.

12. *Gruys E.* Acute phase reaction and acute phase proteins / E. Gruys, M. J. M. Toussaint, T. A. Niewold, S. J. Koopmans // *J. Zhejiang Univ Sci B.* – 2005. – V. – 6 (11). – P. 1045-1056.
13. *Ognibene A.* Cystatin C reference values and aging" / Ognibene A, Mannucci E, Caldini A, et al. // *Clin. Biochem.* – 2006. – Vol.39 (6). – P. 658-661.
14. *Roos JF.* Diagnostic accuracy of cystatin C compared to serum creatinine for the estimation of renal dysfunction in adults and children--a meta-analysis/ JF. Roos, J. Doust, SE. Tett et al. // *Clin. Biochem.* – 2007. – Vol. 40(5-6). – P. 383-391.
15. *Sabina Janciauskiene.* Acute Phase Proteins - Regulation and Functions of Acute Phase Proteins / Sabina Janciauskiene, Tobias Welte and Ravi Mahadeva. [Електронний ресурс] // Science, Technology and Medicine open access publisher. – 2011 : URL : <http://www.intechopen.com/books/acute-phase-proteins-regulation-and-functions-of-acute-phase-proteins/acute-phase-proteins-structure-and-function-relationship>
16. *Sachin Jain.* Acute-phase proteins: As diagnostic tool / Sachin Jain, Vidhi Gautam, and Sania Naseem // *J Pharm Bioallied Sci.* – 2011. – V. – 3 (1). – P. 118-127.
17. *Turk V.* Cystatins: biochemical and structural properties, and medical relevance / V. Turk, V. Stoka, D. Turk // *Front Biosci.* – 2008. – Vol. – 13. – P. 5406-5420.
18. *Yuekang Xu.* Cystatin C is a disease-associated protein subject to multiple regulation / Yuekang Xu, Ying Ding, Xinchun Li and Xiaobing Wu // *Immunology and Cell Biology.* – 2015. – V. – 93. – P. 442-451.

Надійшла до редакції 19.11.2015

Прийнята до друку 25.01.2016