

УДК 616.61-002:612.017.1]-07

М.О. Шелест

Харківський національний медичний університет

ПРОДУКЦІЯ ІНТЕРЛЕЙКІНІВ 1 β , 2 ТА 10 У ХВОРИХ ІЗ ЗАГОСТРЕННЯМ ХРОНІЧНОГО ПІЄЛОНЕФРИТУ

У 22 хворих із загостренням хронічного пієлонефриту досліджений вміст прозапальних інтерлейкінів 1 β і 2, протизапального інтерлейкіну 10 і маркера запалення – С-реактивного білка (СРБ) у крові. Встановлено суттєве підвищення їх рівнів. У міру підвищення тривалості запального процесу при наступних загостреннях за рівнями досліджуваних цитокінів і СРБ він менш виразний. Після стандартної терапії підвищені вихідні рівні цитокінів і СРБ у крові значно знижувалися, практично повертаючись (окрім ІЛ-2) до норми. Отримані результати свідчать про доцільність використання досліджених показників цитокінового спектра крові, а також вмісту СРБ у якості об'єктивних критеріїв активності запального процесу при пієлонефриті та контролю ефективності терапії.

Ключові слова: *пієлонефрит, запалення, імунітет, інтерлейкіни, С-реактивний білок.*

Останніми роками в багатьох країнах світу спостерігається збільшення ниркових захворювань, серед яких перше місце посідає пієлонефрит. Хворі з встановленим діагнозом хронічний пієлонефрит, що виявлений після перенесеного гострого, знаходяться під спостереженням клініцистів і отримують відповідну терапію. Якщо ж хронічний пієлонефрит виникає поступово, латентно, то виявлення захворювання відбувається на пізніх стадіях, коли з'являються ускладнення або ознаки зниження функції нирок. Труднощі діагностики на ранніх стадіях при малосимптомному чи латентному перебігу хронічного пієлонефриту визначаються нестачею діагностичних методів, одночасно високочутливих, специфічних і разом з тим доступних для застосування в повсякденній клінічній практиці [1].

Виникнення і прогресування захворювань нирок, зокрема хронічного пієлонефриту, супроводжується змінами імунної системи та іншими системними проявами запалення, які можуть бути маркерами несприятливого прогнозу. Експериментальними дослідженнями біопатів і ізольованих клітин нирок та клінічними випробуваннями доведена суттє-

ва участь в прогресуванні цього захворювання прозапальних цитокінів [2].

Цитокінова сітка є саморегулюючою системою, порушення в балансі якої призводять до надмірного чи недостатнього синтезу окремих цитокінів, що, у свою чергу, може впливати на розвиток патологічних процесів. Деякі цитокіни є прозапальними, інші, навпаки, ланками протизапальної системи організму [3–5].

Особливого значення в цитокіновому ланцюгу розвитку пієлонефриту надається секреторній формі ІЛ-1 β , ІЛ-2 і ІЛ-10, що продукуються моноцитами/макрофагами і Т-хелперами 1-го та 2-го типу відповідно [6]. Вказані інтерлейкіни регулюють міжклітинні взаємодії, проліферацію мезангія, експресію генів і викликають безліч змін на клітинному рівні, тим самим сприяючи запальним процесам в нирках [7].

Враховуючи багатогранність, синергізм/антагонізм і плейотропність ефектів цитокінів, що беруть участь у різних патологічних процесах, можна вважати коректною одночасну оцінку продукції різних медіаторів. Це послужило підставою для проведення даного дослідження, метою якого

© М.О. Шелест, 2013

було визначити вміст прозапальних цитокінів ІЛ-1 β і ІЛ-2 та протизапального цитокіну ІЛ-10 у крові хворих із загостренням хронічного пієлонефриту й оцінити можливість використання отриманих даних для поглибленої діагностики і прогнозування перебігу хвороби.

Матеріал і методи. Під спостереженням знаходилися 22 хворих із загостренням хронічного пієлонефриту, яких відібрали у 2010–2012 рр. на базі терапевтичного стаціонара. Діагноз було встановлено на підставі типових ознак загострення пієлонефриту (болі в поперековій ділянці, больове почастішання сечовипускання, фебрильна температура тіла, лейкоцитоз при загальному аналізі крові і лейкоцитурія (піурія) при загальному аналізі сечі). При встановленні діагнозу керувалися Міжнародною статистичною класифікацією хвороб (МКБ-10, 1992) і рекомендаціями експертів ВООЗ (1998). Були сформульовані наступні критерії відбору пацієнтів для дослідження: вік не молодше 18 і не старше 50 років; відсутність вагітності у пацієток; наявність неускладненого пієлонефриту; відсутність аритмії серця; відсутність в анамнезі судомних станів, епілепсії, травм і пухлин головного мозку, тиреотоксикозу; добровільна згода на участь у дослідженні, підтверджена підписом.

Середній вік хворих склав (35,9 \pm 5,6) років. Жінок було 12 (54,55 %), чоловіків – 10 (45,45 %). Середня тривалість захворювання становила (6,41 \pm 3,24) року. У 58,0 % пацієнтів хронічний пієлонефрит проходив ізольовано, у решти хворих – на тлі супутньої хронічної соматичної патології. Контролем служили 20 осіб аналогічного віку й статі, у яких при обстеженні не виявлено відхилень від фізіологічних параметрів, включаючи і органи сечовидільної системи.

Всім хворим в динаміці спостереження проведено діагностичні дослідження за стандартним набором: загальний аналіз крові, сечі, пробу Реберга, аналіз сечі за Нечипоренком, посів сечі на мікрофлору. Використано біохімічні, рентгенологічний та ультразвуковий методи дослідження нирок.

Рівні цитокінів (ІЛ-1 β , ІЛ-2 і ІЛ-10) у плазмі крові визначали за допомогою імуноферментного аналізу, використовуючи тест-систему ProCon (Санкт-Петербург), за нада-

ною інструкцією. Досліджували також вміст у крові маркера запалення С-реактивного білка (СРБ) імуноферментним методом за допомогою наборів реагентів фірми DRG International Inc. (USA).

Математичний аналіз метричних даних проводили з використанням стандартних комп'ютерних програм. Достовірність відмінностей середніх величин і їх стандартних відхилень ($M\pm SD$) між групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Достовірною вважалася ймовірна похибка менше 5 % ($p < 0,05$).

Результати та їх обговорення. Дослідження показали, що рівень ІЛ-1 β в плазмі крові хворих на пієлонефрит вірогідно підвищувався – майже в 4 рази в порівнянні з контрольною групою (табл. 1). Аналогічні зміни спостерігали й при дослідженні рівня ІЛ-2.

Таблиця 1. Концентрація цитокінів і С-реактивного білка (СРБ) в крові хворих із загостренням хронічного пієлонефриту ($M\pm SD$)

Показник	Контрольна група (n=20)	Основна група (n=22)
Цитокіни, пг/мл		
ІЛ-1 β	4,81 \pm 0,77	18,37 \pm 4,27
ІЛ-2	4,28 \pm 1,01	17,43 \pm 2,71
ІЛ-10	5,69 \pm 1,55	14,78 \pm 3,59
СРБ, мг/л	2,37 \pm 0,81	14,28 \pm 4,10

Примітка. $p < 0,05$.

Отже, у хворих на хронічний пієлонефрит у порівнянні з контрольною групою спостерігалось підвищення рівнів прозапальних цитокінів (ІЛ-1 β і ІЛ-2) в плазмі крові, тобто активація їх продукції відповідно моноцитами/макрофагами і Т-хелперами 1-го типу. Припускається, що між діями ІЛ-1 β та ІЛ-2 існує синергізм, більш того, частина ефектів ІЛ-1 β на імунну систему може бути віднесена на рахунок ІЛ-2 – ІЛ-1 β підвищує секрецію ІЛ-2 [8].

Вміст протизапального ІЛ-10 у плазмі крові також вірогідно підвищувався – більш ніж удвічі. Значне збільшення рівня в крові (майже в 6 разів) відмічалось і з боку маркера запалення СРБ (табл. 1).

Проаналізовано також вміст цитокінів і СРБ в крові хворих на хронічний пієлонефрит в залежності від тривалості перебігу захворювання (табл. 2).

Встановлено, що при тривалості перебігу захворювання 4–6 років рівень ІЛ-1 β дещо підвищувався порівняно з його рівнем у перші три роки, а потім знижувався. Так, при тривалості захворювання до трьох років він

вдвічі – до (7,65 \pm 2,62) пг/мл ($p < 0,05$), іноді досягаючи значень контрольної групи ($p > 0,01$ порівняно з контролем).

Після лікування рівень СРБ також знижувався до (5,52 \pm 2,43) мг/л ($p < 0,05$) у порівнянні з вихідними даними ($p > 0,01$ відносно контролю).

Після проведеної терапії відмічено зменшення рівня ІЛ-1 β у 75 % обстежених і рівня

Таблиця 2. Концентрація цитокінів і С-реактивного білка (СРБ) в крові хворих на хронічний пієлонефрит в залежності від тривалості перебігу захворювання ($M \pm SD$)

Показник	Контрольна група (n = 20)	Основна група з тривалістю перебігу захворювання, років		
		до 3-х (n=8)	4–6 (n=5)	7 і більше (n=9)
Цитокіни, пг/мл				
ІЛ-1 β	4,81 \pm 0,77	14,87 \pm 6,29	15,32 \pm 6,04	13,84 \pm 3,82
ІЛ-2	4,28 \pm 1,01	16,01 \pm 3,84	13,47 \pm 3,5	13,01 \pm 2,38
ІЛ-10	5,69 \pm 1,55	15,26 \pm 3,89	15,97 \pm 4,04	13,69 \pm 3,15
СРБ, мг/л	2,37 \pm 0,81	11,63 \pm 4,74	12,21 \pm 8,55	9,39 \pm 4,79

Примітка. $p < 0,05$ порівняно з контролем.

перевищував контроль у 3,09 раза, 4–6 років – у 3,19, а 7 і більше років – у 2,88 раза. Вміст ІЛ-2 був підвищений у перші три роки в 3,74 раза, а в подальшому знижувався у 3,15 і 3,04 раза відповідно порівняно з контролем. Рівні ІЛ-10 і СРБ мали таку ж тенденцію, як і ІЛ-1 β : підвищувалися в перші три роки захворювання в 2,68 і 4,91 раза, через 4–6 років у 2,81 і 5,15 раза, а потім їх рівень знижувався в 2,41 і 3,96 раза відповідно в порівнянні з контролем.

Отже, в цілому в міру підвищення тривалості запального процесу при наступних загостреннях він був менш виразний. Такі результати дослідження, на нашу думку, свідчать про більш глибокі імунологічні і, можливо, структурні порушення в нирках при тривалому анамнезі хвороби.

Після лікування рівні прозапальних цитокінів достовірно знижувалися порівняно з вихідними значеннями: ІЛ-1 β до (7,64 \pm 2,69) пг/мл, ІЛ-2 до (8,17 \pm 2,05) пг/мл ($p < 0,05$ в обох випадках), що вказує на значне вщухання патологічного процесу. При цьому вміст ІЛ-1 β вже вірогідно не відрізнявся від контрольного значення ($p > 0,1$), ІЛ-2 – залишався достовірно підвищеним ($p < 0,05$).

Вміст цитокіну ІЛ-10 в процесі лікування хронічного пієлонефриту знижувався майже

ІЛ-2 у 65 % пацієнтів із нетривалим анамнезом захворювання. Повне відновлення балансу прозапальних і протизапального цитокінів при анамнезі хвороби до трьох років мало місце в третині випадків, а при тривалості захворювання понад три роки – лише у 25 % пацієнтів (протягом перших двох тижнів терапії).

У хворих із загостренням хронічного пієлонефриту в ряді випадків спостерігалися значні індивідуальні зміни імунологічних показників, що може бути пов'язано з особливостями клінічного перебігу захворювання. У зв'язку з цим потрібно подальше накопичення даних для проведення клініко-імунологічних співставлень при різних стадіях патологічного процесу, формах, супутніх захворюваннях і для визначення імунологічних критеріїв, які об'єктивізують тактику лікування хворих.

Обговорюючи отримані дані, слід відмітити, що ІЛ-1 β є раннім індукційним цитокіном, який швидко накопичується в крові при патології. Він відіграє ключову роль в мононуклеарну фазу гострого запалення, здійснюючи прозапальну дію внаслідок активації молекул адгезії на ендотелії та хемотаксису лейкоцитів, підвищення проникності судин, підсилення функціональ-

ної активності фібробластів, активації гострофазної відповіді шляхом індукції синтезу в печінці СРБ, сироваткового амілоїду А та фібриногену [4, 5, 9].

Можливо, при запаленні підвищується продукція рецепторного антагоніста ІЛ-1, який блокує зв'язування цитокіну з рецепторами на лімфоцитах і фібробластах. Встановлено, що індукція синтезу рецепторного антагоніста відбувається під дією тих же стимулів, що і самого ІЛ-1, проте перший є унікальним серед сімейства ІЛ-1, тому що в нормі він присутній в плазмі крові в достатньо високих концентраціях, що, можливо, пов'язано з конститутивною експресією гена рецептора ІЛ-1 і його постійним синтезом тканинними макрофагами і гепатоцитами. Можливо, присутність рецептора ІЛ-1 в крові виконує роль своєрідного буфера, який блокує дію ендогенного ІЛ-1 і захищає організм від різкого підвищення рівня останнього [3, 4].

Як основний протизапальний цитокін, ІЛ-10 пригнічує секрецію прозапальних цитокінів, а також активність макрофагів: подання антигенів, процес фагоцитозу, кілінг мікроорганізмів, що їх «проковтнули» макрофаги. ІЛ-10 блокує викид різних хемокинів нейтрофільними гранулоцитами, а також активацію циклооксигенази-2 і синтез простагландину Е2 [4]. З іншого боку, різке посилення продукції ІЛ-10 веде до зниження активності протиінфекційного захисту, розвитку хронічного і несприятливого перебігу запалення. При цьому відбувається пригнічення антигенпрезентуючої і цитотоксичної функції макрофагів. Тому вважається, що гіперпродукція ІЛ-10 є одним із суттєвих дефектів цитокінової сітки, які приводять до зміщення акценту імунної реакції в бік антитілоутворення [4, 5]. Крім того, гіперпродукція ІЛ-10 при запаленні приводить до різкого наростання концентрації кисневих радикалів і оксиду азоту, посилюючи інтоксикацію [10]. У той же час, будучи одним із найсильніших інгібіторів синтезу ІЛ-1 β , ІЛ-10 продукується тільки в присут-

ності останнього [4]. Тому динаміка вмісту ІЛ-10 визначається змінами рівня ІЛ-1 β в крові і є фактором захисту від надзвичайної активації процесів пероксидації.

Стероїдні гормони, будучи імуносупресорами, пригнічують експресію генів цитокінів, блокують їх синтез і не дають рівню цитокінів перевищити граничні значення [11]. Це, можливо, є ефективним механізмом негативного зворотного зв'язку для контролю надмірного синтезу цитокінів, оскільки продукція глюкокортикоїдів при загостренні патологічного процесу зростає [12].

Таким чином, загострення хронічного пієлонефриту супроводжувалося підвищенням рівнів ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-10 та СРБ у крові. Динаміка ІЛ-10, можливо, свідчить про різнобічність у механізмах формування процесів запалення.

Висновки

1. Для хворих із загостренням хронічного пієлонефриту характерно суттєве підвищення рівнів прозапальних інтерлейкінів 1 β і 2 та протизапального ІЛ-10 й маркера запалення С-реактивного білка, в основі чого, очевидно, лежить збільшення їх продукції моноцитами/макрофагами, Т-хелперами 1-го та 2-го типів і гепатоцитами відповідно.

2. В міру підвищення тривалості запального процесу при наступних загостреннях за рівнями досліджуваних цитокінів і С-реактивного білка він менш виразний, що може свідчити про більш глибокі імунологічні і, можливо, структурні порушення в нирках при тривалому анамнезі хвороби.

3. Після стандартної терапії підвищені вихідні рівні цитокінів і С-реактивного білка в крові значно знижувалися, практично повертаючись (окрім рівня ІЛ-2) до норми.

4. Отримані результати переконливо свідчать про доцільність використання досліджених показників цитокінового спектра крові, причому як ІЛ-1 β і ІЛ-2, так і ІЛ-10, а також С-реактивного протеїну в якості об'єктивних критеріїв активності запального процесу при пієлонефриті та контролю ефективності терапії.

Список літератури

1. Шилов Е. М. Нефрология / Е. М. Шилов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 697 с.
2. Кучер А. Г. Некоторые проблемы диагностики хронического пиелонефрита / А.Г. Кучер, И.Г. Каюков // Нефрология. – 2005. – Т. 9, № 4. – С. 108–111.

3. *Абрамов В. В.* Интерлейкин-1 в цитокиновой сети: фундаментальные и прикладные аспекты / В.В. Абрамов, Т. Я. Абрамова // *Успехи современной биологии.* – 2007. – Т. 127, № 6. – С. 570–579.
4. *Кетлинский С. А.* Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. – СПб.: Фолиант, 2008. – 408 с.
5. *Серебренникова С. Н.* Роль цитокинов в воспалительном процессе / С.Н. Серебренникова, И.Ж. Семинский // *Сибирск. мед. журн.* – 2008. – № 6. – С. 5–8.
6. Роль интерлейкина 1 β в прогрессировании хронической почечной недостаточности / Ж.Д. Семидоцкая, О.И. Ромаданова, А. Б. Борзенко, В.В. Семирошкин // *Укр. журн. нефрології та діалізу.* – 2005. – № 3 (6). – С. 57–61.
7. *George Cr.* From Fahrenheit to cytokines: fever, inflammation and the kidney / Cr. George // *J. Nephrol.* – 2006. – Vol. 19, Suppl. 10. – P. 88–97.
8. Associations between circulating inflammatory markers and residual renal function in CRF patients / R. Pecoits-Filho, O. Heiburger, P. Barany [et al.] // *Am. J. Kidney Dis.* – 2003. – Vol. 41. – P. 1212–1218.
9. *Kishimoto T.* Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine / T. Kishimoto // *Arthritis Res. Ther.* – 2006. – Vol. 8, Suppl. 2. – P. 2–14.
10. *Маркелова Е. В.* Патогенетическая роль нарушений в системе цитокинов при инфекционно-воспалительных заболеваниях / Е. В. Маркелова, А. В. Костюшко, В. Е. Красников // *Тихоокеанск. мед. журн.* – 2008. – № 3. – С. 24–29.
11. Цитокины и постишемические нарушения микроциркуляции мозга крыс после смертельной кровопотери / Д. А. Еникеев, Е. А. Нургалева, А. Ф. Самигуллина [и др.] // *Мед. вестник Башкортостана.* – 2009. – Т. 4, № 2. – С. 86–89.
12. *Семененя И.Н.* Проблемы субфебрилитета: фундаментальные аспекты / И. Н. Семененя. – Минск: Ковчег, 2002. – 290 с.

М.А. Шелест

ПРОДУКЦИЯ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ 1 β , 2 И 10 У БОЛЬНЫХ С ОБОСТРЕНИЕМ ХРОНИЧЕСКОГО ПИЕЛОНЕФРИТА

У 22 больных с обострением хронического пиелонефрита исследовано содержание провоспалительных интерлейкинов 1 β и 2, противовоспалительного интерлейкина 10 и маркера воспаления – С-реактивного белка (СРБ) в крови. Установлено существенное повышение их уровней. По мере увеличения продолжительности воспалительного процесса при последующих обострениях уровни исследуемых цитокинов и СРБ изменялись менее выразительно. После стандартной терапии повышенные исходные концентрации цитокинов и СРБ в крови значительно снижались, практически возвращаясь (кроме ИЛ-2) к нормальным значениям. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности использования исследованных показателей цитокинового спектра крови, а также содержания СРБ в качестве объективных критериев активности воспалительного процесса при пиелонефрите и контроля эффективности терапии.

Ключевые слова: пиелонефрит, воспаление, иммунитет, интерлейкины, С-реактивный белок.

М.О. Shelest

PRODUCTION OF INTERLEUKIN 1 β , 2, AND 10 IN PATIENTS WITH EXACERBATION OF CHRONIC PYELONEPHRITIS

The content of proinflammatory interleukin 1 β and 2, anti-IL-10 and a marker of inflammation – C-reactive protein (CRP) in the blood, in 22 patients with acute exacerbation of chronic pyelonephritis were found a significant increase in their levels. Levels of cytokines and investigated CRP changes are less expressive with subsequent exacerbations. The initial and increased levels concentrations of cytokines and CRP were decreased significantly and almost returned (except of IL-2) to normal after standard therapy. The results indicate the usefulness of the indices studied cytokine spectrum of blood, as well as the content of CRP as an objective criterion of inflammatory activity with pyelonephritis and monitor of the effective therapy.

Key words: pyelonephritis, inflammation, immunity, interleukins, C-reactive protein.

Поступила 19.02.13