ID: 2017-02-1276-A-13103 Оригинальная статья

Хотько А.И., Захарова Н.Б., Россоловский А.Н., Попыхова Э.Б.

Динамика биомаркеров воспаления и ангиогенеза в моче у больных с обструктивным синдромом после разрешения обструкции

ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России

Ключевые слова: биомаркеры воспаления, мочекаменная болезнь

Введение

Мочекаменная болезнь остается одной из наиболее частых нозологий при анализе деятельности урологических стационаров. По данным официальной статистики год от года заболеваемость мочекаменной болезнью становится выше как по Российской Федерации (РФ) в целом, так и в Саратовской области. В Российской Федерации по данным официальной статистики за последние шесть лет отмечен устойчивый рост уровня случаев общей заболеваемости населения МКБ с 425,7 случаев на 100 тыс. населения до 578,8 соответственно [3]. Имеет место увеличение заболеваемости на 26,5 %. Вместе с тем растет и число осложнённых форм уролитиаза, сопровождающихся пиелонефритом, обструкцией мочевых путей, требующих дренирования полостной системы почки с целью купирования воспалительных изменений, восстановление оттока мочи и нормализацию функции почки [15,16]. В литературе и клинических рекомендациях о сроках дренирования полостной системы почки, критериях оценки почечной функции, степени выраженности воспалительных изменений имеются достаточно разнородные и разрозненные данные. В исследованиях последних лет получены убедительные доказательства, что у пациентов с обструктивными уропатиями воспалительные процессы формируют на уровне почечной паренхимы замкнутую патологическую систему, в которой участвуют тубулярный эпителий, нейтрофилы и макрофаги, а главной мишенью становится эндотелий [1]. Показано, что концентрацию некоторых из медиаторов воспалительного процесса можно определять в моче [2,4,5,6], хотя исследования подобного рода весьма фрагментарны. Вместе с тем именно такой неинвазивный метод количественного анализа биомаркеров воспаления перспективен для разработки новых технологий определения сроков дренирования почки, оценки степени тяжести повреждения паренхимы почек [2,7,8,9,10,11].

Одними из наиболее патогенетически актуальных маркеров являются моноцитарный хемоаттрактант (MCP-1), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF - Vascular endothelial growth factor), интерлейкин-8 (IL-8) , С-реактивный белок (CRP) [12,13,14]. Уровень данных маркеров в моче может быть использован для оценки динамики воспалительных процессов, а также динамики течения обструктивной уропатии в процессе разрешения обструкции.

Результаты определения данных показателей необходимы для уточнения тактики дальнейшего ведения больных. Наличие выраженного повышения концентрации вышеперечисленных маркеров в моче может свидетельствовать об их локальной гиперпродукции в результате обструктивного синдрома, воспалительной реакции.

Целью данного исследования явилось обоснование сроков чрескожного дренирования полостной системы почки, путем сравнительной оценки диагностического значения определения концентрации биомаркеров воспаления и ангиогенеза в моче больных с обструктивными уропатиями в динамике.

Материал и методы

Основную группу составили пациенты, с конкрементами лоханочно-мочеточникового сегмента, размерами от 1до 1,5 см, вызывающих обструкцию верхних мочевыводяших путей, без клиники обструктивного пиелонефрита (n=20, из них женщин -13, мужчин - 7), проходившие лечение в период с сентября 2015 года по апрель 2016 года было. В группу вошло 20 пациентов в возрасте от 26 до 60 лет (медиана – 43 года) проходивших лечение в НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского. Всем пациентам проводилось комплексное общеклиническое обследование, включающее в себя: изучение жалоб и сбор анамнеза; физикальное обследование пациента; ультразвуковое исследование; общий и биохимический анализ крови; обзорную рентгенографию почек и мочевых путей, экскреторную урографию; ультразвуковое исследование, мультиспиральную компьютерную томографию с реконструкцией изображения, кроме того в сопоставлении с клиническими данными определялись вышеуказанные маркеры.

В исследование не включались пациенты, имеющие врожденный гидронефроз, выраженную сопутствующую общесоматическую патологию (сахарный диабет, онкологические заболевания, ИБС, артериальная гипертензия 3-4 ст, нарушения почечной гемодинамики), пациенты, с повторными хирургическими вмешательствами на почках.

Все пациенты, включенные в исследование, получали принятую антибактериальную, противовоспалительную терапию. Дренирование почки у пациентов основной группы выполнялось путем чрескожной пункционной нефростомии в условиях операционной по стандартной методике.

Контрольная группа была сформирована из 20 пациентов с мочекаменной болезнью (конкременты почек, единичные конкременты каликсов,не вызывающими обструктивного синдрома и не проявляющими себя клинически и по данным лабораторного обследования, в возрасте от 25 до 65 лет.

Для количественного анализа биомаркёров первую порцию утренней мочи в объеме не менее 100 мл собирали в специальные стаканы с крышками. Предварительно в емкость для забора мочи вносили 20 мкл раствора «ProClin 300» («SUPELCO», США). Аликвоты сыворотки крови и мочи разливали в пробирки с крышками типа «Eppendorf» и хранили до проведения исследования при температуре минус 25 ºС.

Концентрацию биомаркеров воспаления и ангиогенеза в сыворотке крови и моче обследуемых пациентов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), используя соответствующие наборы реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск). Исследование всех биомаркеров у пациентов до и после дренирования проводили пятикратно: при поступлении в стационар до дренирования (1 точка), через 7 дней от момента разрешения обструкции (2 точка), через 14 дней после дренирования (3 точка), затем на 21 и 28 сутки (соответственно 4 и 5 точки).

© Бюллетень медицинских Интернет-конференций, 2017

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета IPSS Statistic 17. В качестве критерия достоверности отличия между двумя независимыми группами использовали непараметрический критерий (U) Манна-Уитни. Во всех процедурах статистического анализа принимался уровень значимости p <0,05.

Результаты

По результатам проведенных исследований следует, что наиболее выраженный подъем концентрации в образцах мочи в точке 1, относительно контрольной группы, получен для цитокина IL – 8. (рис.1)

Исходя из полученных данных уровень IL-8 до дренирования составляет 37,5 пг/мл, у пациентов группы сравнения – 0.4 пг/мл. Отмечается тенденция к умеренному снижению к 7 суткам, после разрешения обструкции, с подъемом к 14 и 21 суткам, однако к 28 суткам отмечается снижение уровня Il-8 ниже дооперационных значений, однако полученные показатели и к этим срокам остаются высокими по сравнению с контрольной группой (p <0,05).

При анализе полученных результатов MCP-1 (рис.2), показано, что исходно уровень данного биомаркера повышен (614,9 пг/мл) относительно группы сравнения (253 пг/мл), через 7 суток после дренирования почки (точка 2) содержание MCP-1 в моче снижается, с незначительным повышением к 14 суткам, но далее отмечается снижение, ниже показателей контрольной группы p <0,05.

Концентрация VEGF до дренирования полостей почки и на 7-е сутки после разрешения обструкции показывают высокие значения (322,4 пг/мл) и (342,6 пг/мл соответственно). К 14 суткам имеется тенденция к отчетливому снижению показателя, продолжающееся к 21 и 28 суткам, не достигая, однако, значений контрольной группы (33 пг/мл) p <0,05. (рис.3).

Уровень CRP в моче оказался несколько ниже контрольной группы и статистически не значимо (рис.4).

Таким образом, концентрация биомаркеров в моче у больных с обструктивным синдромом до дренирования почки (1 точка исследований) представлена в таблице 1. Отмечено значительное нарастание уровней MCP-1, IL-8, VEGF по сравнению с контрольной группой в моче в 2,4-92 раза. Концентрация CRP по сравнению с референтными значениями изменилась незначительно.

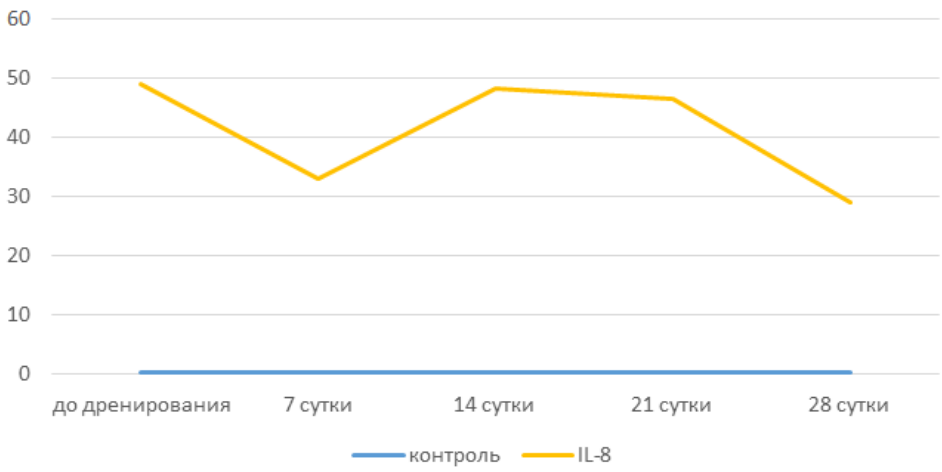

Рисунок 1. Концентрация уровня IL-8 у больных с обструктивным синдромом до и после дренирования относительно контрольной группы

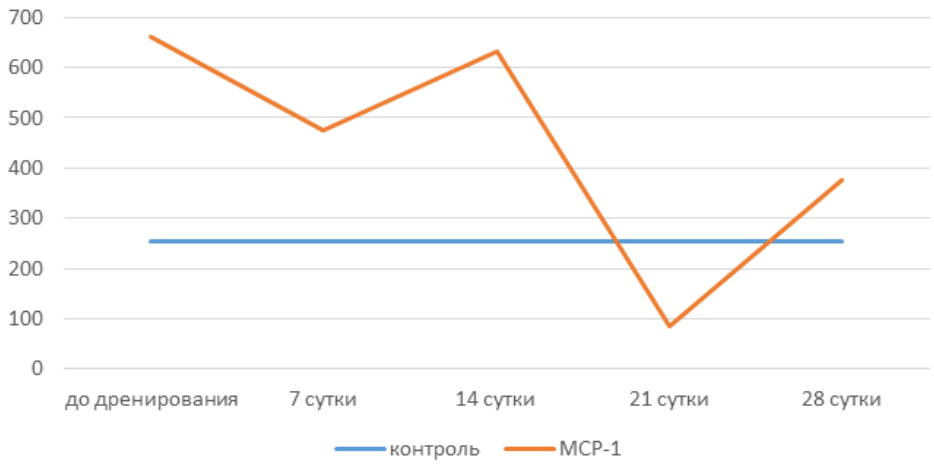

Рисунок 2. Концентрация уровня MCP-1 у больных с обструктивным синдромом до и после дренирования относительно контрольной группы

© Bulletin of Medical Internet Conferences, 2017

Таблица 1. Концентрация цитокинов в моче пациентов с обструктивным синдромом

Определяемый биомаркер	*Среднее значение, диапазон квартильных отклонений*					
	Группа контроля, n-20	*Больные с обструктивным синдромом, n -20*				
		До дренирования	*7 сутки*	*14 сутки*	*21 сутки*	*28 сутки*
VEGF, пг/мл	33 19-41	322,4 77,1-703,9	342,6 86,7-1450	247,2 59-520,5	192,6 126-247	118,7 57,2-246
MCP-1, пг/мл	253 159-287	614,9 259-1983	218,6 163,9-839,8	434,7 95,8-1358	89,2 11,58-197	229,3 131-720
IL-8, пг/мл	0,4 0,0-12,1	37,54 8,17-117	34,28 7,55-94,07	43,02 7,9-105,8	58,49 11,6-113,9	35,82 6,03-100,1
CRP, мкг/мл	0,63 0,29-1,08	0,423* 0,37-0,5	0,422* 0,31-0,55	0,524* 0,36-0,93	0,418* 0,38-0,48	0,265* 0,36-1,06

Примечание: *p>0,05 в сравнении с контрольной группой

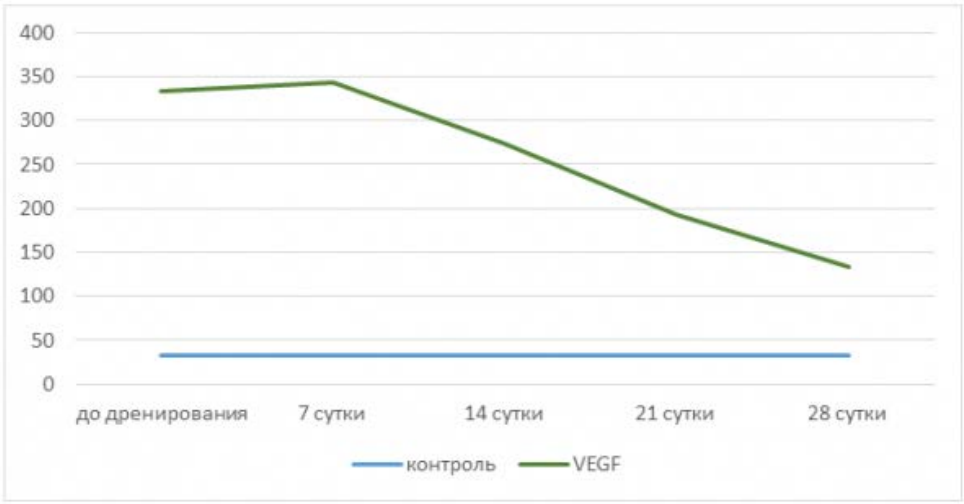

Рисунок 3. Концентрация уровня VEGF у больных с обструктивным синдромом до и после дренирования относительно контрольной группы

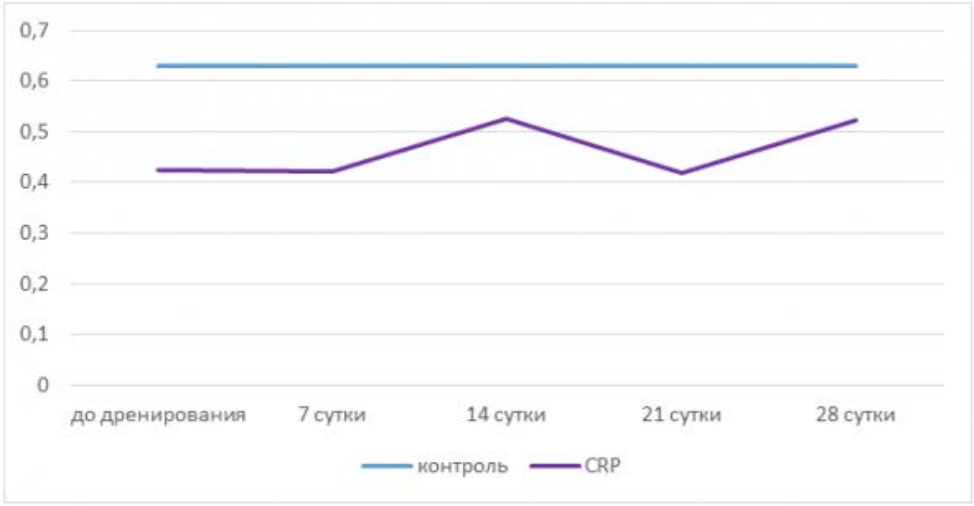

Рисунок 4. Концентрация уровня CRP у больных с обструктивным синдромом до и после дренирования относительно контрольной группы

Обсуждение

В представляемом исследовании мы проанализировали уровень локального и системного воспалительного ответа у пациентов с обструктивным синдромом до и после дренирования почки путем измерения концентрации биомаркеров в моче. Изменения в уровне цитокинов имели разнонаправленный характер. С одной стороны, до дренирования отмечалось выраженное повышение уровней MCP-1, VEGF, IL-8 в моче. Это может рассматриваться как критерии локального воспалительного процесса, развивающегося на уровне паренхимы почек. Нарастание уровня этих маркёров выше указанных значений свидетельствует о активации воспалительного процесса. Наибольшую диагностическую значимость для раннего выявления обострений и прогнозирования развития воспаления у больных обструктивными уропатиями имеют определения VEGF, IL-8 и MCP-1 в моче. Что касается концентрации CRP, играющего существенную роль в формировании локального иммунного ответа непосредственно в

момент обострения хронического воспалительного пиелонефрита, значимых различий получено не было, возможно, в связи с немногочисленной выборкой. Данный факт требует дальнейшего исследования. Мониторинг концентрации цитокинов в моче является неинвазивным и доступным для применения методом исследования, позволяющим клиницисту дать оценку выраженности воспалительного процесса в мочевыводящих путях.

Результаты определения концентрации MCP-1 и VEGF у больных обструктивным синдромом могут быть использованы для оценки активности патологических процессов, указанные изменения, по- видимому обусловлены, тубулоинтерстициальными повреждениями при обструктивном синдроме, очевидно, являются результатом сложных межклеточных взаимодействий, осуществляемых при участии про- и противовоспалительных цитокинов и факторов роста, повреждением стенок сосудов, изменением тонуса сосудистого русла и усугублением ишемии почечной паренхимы, которые стимулируют секрецию факторов роста. Важную роль в формировании дисфункции почек, как обоснованно считает ряд нефрологов, играет транс-дифференцировка трубчатых эпителиальных клеток в миофибробласты, которые активно пролиферируют и синтезируют вещества внеклеточного матрикса, что приводит к эндотелиальной дисфункции [17,18]. В данном процессе активное участие принимает инфильтрат почечного интерстиция, основным компонентом которого являются моноциты/макрофаги, интенсивность их инфильтрации регулируется MCP-1. Можно предположить, что эндотелиальная дисфункция приводит к формированию интерстициального фиброза, развитию ишемии и, как следствие, к увеличению секреции VEGF.

Заключение

Таким образом, подъем концентрации некоторых из маркеров в моче (VEGF, IL-8, MCP-1) можно считать одним из свидетельств наличия обструктивной уропатии у пациента.

С клинической точки зрения, найденные закономерности нуждаются в дальнейших исследованиях с целью определения корреляции между уровнем биомаркеров и клинической картиной заболевания, определения сроков дренирования полостной системы почки. Также необходимо оценить возможность применения оценки уровня цитокинов в моче для коррекции тактики лечения на том или ином этапе лечения.

Литература

1. Аляев, Ю. Г. Мочекаменная болезнь: современные методы диагностики и лечения руководство / Ю. Г. Аляев, М. А. Газимиев, и др., В. И. Руденко - М.: ГЭОТАР-Медиа, -2010. -224 с.
2. Эндотелиальная дисфункция у больных мочекаменной болезнью / П.В. Глыбочко, А.А. Свистунов, А.Н. Россоловский и др. // Урология. – 2010. - N 3. - С. 3-6.
3. Щербакова Г.А., Александрова Г.А. Заболеваемость всего населения России в 2014 году.// Сборник. Москва; 2015.
4. Dr.A.S.Taha. // Urinalysis for interleukin-8 in the non-invasive diagnosis of acute and chronic inflammatory diseases. Crosshouse Hospital, Scotland,UK; Postgrad Med.J.2003. 79. P.159.
5. Gianfrancesco F., Esposito T. Multifactorial disorder: molecularand evolutionary insights of uric acid nephrolithiasis. //Minerva Med. 2005. 96 (6). P.409-416.
6. Sadeghi M, Daniel V, Schnitzler P, Lahdou I, Naujokat C, Zeier M, Opelz G. // Urinary proinflammatory cytokine response in renal transplant recipients with polyomavirus BK viruria. //Transplantation. 2009.15. 88(9). 1109-1116.
7. Vaidya B.C.,Feguson M.A.,Bonventre СП. // Biomarkers of acute kidney injury. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2008. 48. P.463-93.
8. Wong W., Singh A.K. Urinary cytokines: clinically useful markers of chronic renal disease progression? Current Opinion. //Nephrology and hypertension. 2001. 6. P.807-811.
9. Ko Y.C., Mukaida N., Ishiyama S., Tokue A., Kawai T., Matsushima K., Kasahara T. Elevated interleukin-8 levels in the urine of patients with urinary tract infections. // Infect Immun. 1993. 61(4). P.1307-1314.
10. Tikhonov I, Rebenok A, Chyzh A. A study of interleukin-8 and defensins in urine and plasma of patients with pyelonephritis and glomerulonephritis. // Nephrol Dial Transplant. 1997.12(12). P.2557-2561.
11. Horcajada J.P., Velasco M., Filella X., Alvarez L., De Làzzari E., Marín J.L., Collvinent B., Smithson A., Martínez J.A., Noguero M., Vila J., Mensa J. Evaluation of inflammatory and renal-injury markers in women treated with antibiotics for acute pyelonephritis caused by Escherichia coli. // Clin Diagn Lab Immunol. 2004. 11(1). 142-146.
12. Lau Y.L., Tu W. Case-control study of Sichuan and Hong Kong children with melamine-associated renal stones: renal ultrasonography and urinary IL-8 and MCP-1 levels.//Hong Kong Med J. 2013.19. Suppl 8. P.26-30.
13. Suen J.L., Liu C.C., Lin Y.S., Tsai Y.F., Juo S.H., Chou Y.H. Urinary chemokines/cytokines are elevated in patients with urolithiasis.// Urol Res. 2010. Apr. 38(2). 81-87.
14. Zhu W., Liu M., Wang G.C., Che J.P., Xu Y.F., Peng B., Zheng J.H. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin, a biomarker for systemic inflammatory response syndrome in patients with nephrolithiasis. J Surg Res. 2014. Mar. 187(1). P.237-243.
15. Hasna A, Meiyappan K., Periyasam SG, Kalyaperumal M, Bobby Z, Subramaniam AV. // Is urolithiasis associated with increased levels of high sensitivity C-reactive protein and interleukin-6 in diabetic patients?//J Clin Diagn Res. 2015. 9(3). BC01-3.
16. Wang C.J., Hsu C.S., Chen H.W., Chang C.H., Tsai P.C. Percutaneous nephrostomy versus ureteroscopic management of sepsis associated with ureteral stone impaction: a randomized controlled trial. // Urolithiasis. 2016 Oct;44(5):415-9. doi: 10.1007/s00240-015-0852-7.
17. Strutz F., Okada H., Neilson E.G. // Clin. Exp. Nephrol. 2001. V.5. P. 62–74.
18. Taha A. S., Grant V., Kelly R.W. // Postgrad Med. J. 2003. V. 79. P. 159-163.

© Bulletin of Medical Internet Conferences, 2017