

© Б.А.Ребров, В.Я.Плоткин, В.Н.Смирнов, А.Р.Волошинович, 2003
УДК [616.633.96-092:612.014.461.2]:612.115.08+612.017.1

Б.А. Ребров, В.Я. Плоткин, В.Н. Смирнов, А.Р. Волошинович

ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЕЙ ИНТЕРЛЕЙКИНОВ 6 И 10 И ВОДНО-СОЛЕВОГО ГОМЕОСТАЗА ПРИ РАЗВИТИИ ПОСЛЕНАГРУЗОЧНОЙ ПРОТЕИНУРИИ

B.A. Rebrov, V.Ya. Plotkin, V.N. Smirnov, A.R. Voloshinovich

CHANGES IN THE LEVELS OF INTERLEUKINS 6 AND 10 AND WATER-SALT HOMEOSTASIS IN THE DEVELOPMENT OF POST-LOADING PROTEINURIA

Кафедра внутренних болезней факультета последипломного образования Луганского государственного медицинского университета, Украина

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ РАБОТЫ. Выяснить возможную роль изменений уровней ИЛ-6 и 10 и некоторых показателей водно-солевого гомеостаза в возникновении посленагрузочной протеинурии (ПП) у горнорабочих глубоких угольных шахт. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Исследование проводилось у 72 рабочих глубокой угольной шахты после предварительного комплексного медицинского осмотра. Обследуемые были распределены на группы: I – лица без протеинурии после рабочей смены, II – лица с появлением протеинурии (альбуминурия от 0,1 до 0,2 г/л) после рабочей смены. Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц, не связанных с подземными работами. Содержание электролитов (K^+ , Cl^- , Na^+) в крови и моче определяли методом пламенной фотометрии по общепринятой методике. Определение уровня креатинина в крови и в моче проводили по методике Popper. Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) рассчитывали по клиренсу эндогенного креатинина, используя формулу Cocroft-Gault. Исследование концентрации ИЛ 6 и 10 в плазме крови проводилось путем иммуноферментного анализа системой ELISA. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** В результате проведенных исследований в группе шахтеров с посленагрузочной протеинурией выявлены выраженные изменения показателей водно-солевого гомеостаза и уровней интерлейкинов 6, 10, которые усугублялись в процессе рабочей смены. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Усиление взаимодействия между различными компонентами водно-солевого гомеостаза и экспрессией ИЛ у лиц с ПП свидетельствует о значительном напряжении механизмов организма, направленных на поддержание гомеостаза.

Ключевые слова: водно-солевой гомеостаз, шахтеры, интерлейкины, посленагрузочная протеинурия.

ABSTRACT

THE AIM of the work was to elucidate the possible role of changes in the levels of IL 6 and 10 and certain indices of water-salt homeostasis in the appearance of post-loading proteinuria (PLP) in miners working in deep coal mines. **PATIENTS AND METHODS.** The investigation was performed on 72 workers in a deep mine after a preliminary medical examination. The examined were divided into 2 groups: I - subjects without proteinuria after shift, II - subjects with symptoms of proteinuria (albumin from 0.1 to 0.2 g/l) after shift. Control group consisted of 20 practically healthy subjects not engaged in underground workings. Content of electrolytes (K^+ , Cl^- , Na^+) in blood and urine was determined by the method of flame photometry by a conventional technique. The level of creatinine in blood and urine was determined by the Popper method. The glomerular filtration rate (GFR) was calculated by the endogenous creatinine clearance using the Cocroft-Gault formula. Concentration of IL 6 and 10 in blood plasma was investigated by ELISA immunoenzyme analysis. **RESULTS.** The investigations performed in the group of miners with post-loading proteinuria have revealed appreciably changed indices of water-salt homeostasis and levels of IL 6 and 10 which were aggravated during the shift. **CONCLUSION.** The intensified interaction between different components of water-salt homeostasis and expression of IL in subjects with PLP testifies to a considerable strain of the body mechanisms responsible for maintaining homeostasis.

Key words: water-salt homeostasis, miners, interleukins, post-loading proteinuria.

ВВЕДЕНИЕ

Общепринятым считается мнение о том, что интерлейкины (ИЛ) – это цитокины, продуцируемые иммунокомпетентными клетками, обеспечивающие межклеточную взаимосвязь в ходе реализации иммунного ответа [1]. В запуске специфического иммунного ответа участвуют провоспалительные цитокины: ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, фактор некроза опухоли- α , интерферон- γ и др. Противовоспалительные цитокины составляют альтернативную группу: ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13, TGF [1, 2]. В зависимости от

источника продукции цитокины подразделяются на монокины – продукты моноцитов и макрофагов: ИЛ-1, фактор некроза опухоли- α , интерферон α и β , натуральные киллерные клетки и лимфокины – продукты лимфоцитов ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-9 [3].

В настоящее время установлено, что цитокины могут генерироваться не только клетками иммунной системы [1, 4, 5], но и эпителиальными клетками различной локализации [1], клетками гладкой мускулатуры артерий, некоторыми интерстициальными клетками [6].

Несмотря на различное происхождение, принципы действия обеих разновидностей цитокинов одинаковы – выраженная локальность воздействия преимущественно в очаге поражения органа: при первичной встрече с антигеном цитокины практически не поступают в кровоток и лишь при интенсивном и длительном воспалении, чаще при хронических процессах, обнаруживаются значительные уровни монокинов и лимфокинов как в очаге воспаления, так и в крови [7]. Некоторыми исследователями замечено, что провоспалительные интерлейкины появляются в первую очередь через 1-2 часа от начала стимуляции. Пики выработки противовоспалительных цитокинов определяются в пределах от 24 до 72 часов [3]. Варианты взаимодействия цитокинов чрезвычайно сложны, многообразны и в настоящее время активно изучается их участие в механизмах эндогенной регуляции. Обнаружено повышение уровня ИЛ-6 у женщин при увеличении индекса массы тела, при сахарном диабете, при артериальной гипертензии, у лиц, страдающих алкоголизмом [8]. При высоком коэффициенте соотношения провоспалительных к противовоспалительным ИЛ, в частности ИЛ-8/ИЛ-10, у больных с нестабильной стенокардией увеличивается риск коронарной катастрофы, и более высокий уровень ИЛ-10 необходим, чтобы обеспечить защиту кардиомиоцитов [9].

Существуют разноречивые мнения в отношении участия ИЛ в развитии патологических состояний в почках. Так, Z.I.Niemir отмечает, что при заболеваниях почек наблюдается повышение уровня ИЛ-10, особенно резко выраженное при остром сосудистом повреждении (при микроскопическом полиангиите, сопровождающемся протеинурией) [6]. У больных с нефротическим уровнем протеинурии наблюдается значительное повышение тубулоинтерстициальной экспрессии ИЛ-10 [10,11].

Многими исследователями отмечается положительное влияние назначения ИЛ-10 на функцию почек, при этом увеличивается скорость клубочковой фильтрации (СКФ) у людей [6] и экспериментальных животных [2, 12]. В то же время, ряд исследователей отмечает противоположный эффект провоспалительного цитокина ИЛ-6 [13].

Относительно влияния ИЛ на сосудистый тонус, во многом определяющий СКФ, мнения исследователей разноречивы. Так, в ряде работ отмечается, что ИЛ-6 приводит к индукции производного тромбоцитарного фактора роста (PDGF) и пролиферации гладкомышечных клеток сосудов [14] и может расцениваться как возможный вазоконстриктор. Напротив, ИЛ-10 чаще описывается как вещество, обладающее вазодилатирующими

свойствами. Возможно, это связано с влиянием ИЛ на активность циклооксигеназы-2 и синтез простагландинов, и в частности ПГЕ₂ [15]. При этом ИЛ-10 и ИЛ-6 обладают разнонаправленным действием на активность циклооксигеназы и синтез простагландинов [16].

В связи с вышеизложенным, особенности экспрессии ИЛ и изменения водно-солевого гомеостаза (ВСГ) у лиц с возникновением протеинурии после физической нагрузки (посленагрузочная протеинурия; ПП) представляют большой интерес для науки и практики.

Цель работы: выяснить возможную роль изменений уровней ИЛ-6 и 10 и некоторых показателей ВСГ в возникновении посленагрузочной протеинурии (ПП) у горнорабочих глубоких угольных шахт.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось у 72 рабочих глубокой угольной шахты после предварительного комплексного медицинского осмотра. Содержание электролитов (K⁺, Cl⁻, Na⁺) в крови и моче определяли методом пламенной фотометрии по общепринятой методике. Определение уровня креатинина в крови и в моче проводили по методике Porperg. Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) рассчитывали по клиренсу эндогенного креатинина, используя формулу Cockcroft-Gault [17]. Исследование концентрации ИЛ-6 и 10 в плазме крови проводилось путем иммуноферментного анализа системой ELISA. При этом использовались исследовательские наборы фирмы Америкшам: Interleukine-6 [h IL-6] human, ELISA system-code RPN 2754 и Interleukin-10 [h IL-10] human, ELISA system-code RPN 2755. Забор крови проводился до рабочей смены с 7⁰⁰ до 8⁰⁰ и непосредственно после ее окончания – с 14⁰⁰ до 15⁰⁰. Все обследуемые были распределены на группы: I – лица без протеинурии после рабочей смены, II – лица с появлением протеинурии (альбуминурия от 0,1 до 0,2 г/л) после рабочей смены. Контрольную группу составили 20 практически здоровых лиц, не связанных с подземными работами. Все изучаемые показатели в группе рабочих с ПП сравнивались с показателями контрольной группы и I группы.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изученные показатели ВСГ, а также уровни ИЛ в крови представлены в таблице.

Как видно, в контрольной группе после рабочей смены электролиты крови достоверно не изменялись. В моче наблюдалось достоверное повышение уровня K⁺ (UK⁺), Cl⁺ (UCl⁺) и снижение уровня Na⁺ (UNa⁺).

Изменения показателей ВСО и ИЛ-6 и 10 у горнорабочих с посленагрузочной протеинурией ($\bar{X} \pm m$)

Показатели	Контрольная группа (n=15)		I группа (n=41)		II группа (n=11)	
	до работы	после работы	до работы	после работы	до работы	после работы
РК ⁺ , ммоль/л	4,2±0,16	3,94±0,15	4,08±0,05	3,96±0,04	4,1±0,04	3,9±0,04*
РNa ⁺ , ммоль/л	137,8±1,49	138,1±1,87	135,75±0,88	136,4±0,52	130,33±0,89 ^к	128,33±0,28 ^{к*}
PCr, мкмоль/л	65,0±6,61	72,3±4,95	70,98±2,45	75,68±2,64	58,67±3,43 [#]	56,0±1,0 [#]
PCl ⁻ , ммоль/л	94,21±1,92	97,03±1,06	102,54±0,45	100,58±0,11	99,65±0,58 ^к	100,5±0,28 ^к
UK ⁺ , ммоль/л	49,24±7,12	67,01±6,03	28,85±1,98	50,02±2,85	29,0±0,26	51,0±3,04*
UNa ⁺ , ммоль/л	149,0±7,48	122,3±6,15	133,79±4,22	133,05±3,94	126,0±1,88 ^{к*}	112,66±4,18 [#]
UCI ⁺ , ммоль/л	165,6±7,64	190,4±5,83	165,46±9,33	185,20±4,06	165,66±0,15	199,66±6,57*
UCr, ммоль/л	14,04±1,47	12,88±0,98	10,55±0,38	10,69±0,43	7,18±0,66 ^{к*}	7,39±0,76 ^{к*}
СКФ мл/мин.	148,31±12,48	138,21±12,13	185,13±6,89	172,36±6,06	204,19±9,52	193,24±7,94 ^к
ИЛ6, пг/мл	4,53±0,37	5,18±0,99	5,56±0,54	6,63±0,54	4,1±0,64 ^{к*}	4,14±0,69
ИЛ10, пг/мл	12,10±0,78	13,01±0,61	11,6±0,17	12,55±0,31	12,63±0,85 [#]	13,3±1,32*
ИЛ10/ ИЛ6	2,97±0,34	2,26±0,79	2,01±0,01	2,05±0,57	2,9±0,06 ^к	3,58±0,24*

^к - достоверность различий с контрольной группой ($p < 0,05$); [#] - достоверность различий с I группой ($p < 0,05$); * - достоверность различий в группе между уровнем до и после рабочей смены ($p < 0,05$).

В первой группе шахтеров достоверных различий в показателях ВСО и ИЛ после рабочей смены не обнаружено.

Во II группе шахтеров изменения исследуемых показателей были выражены в наибольшей степени. После рабочей смены наблюдалось достоверное снижение РК⁺, РNa⁺ и повышение UK⁺, UCl⁺. Уровень хлора (PCl⁻) и креатинина в крови (PCr) и моче (UCr) в этот период достоверно не менялся. Уровень ИЛ-10 и соотношение ИЛ-10/ИЛ-6 достоверно повышались после рабочей смены.

При сравнении исследуемых показателей у лиц II группы с контрольной обнаружено, что РК⁺ был примерно одинаков, хотя в каждой группе и наблюдалась тенденция к его снижению после рабочей смены. UK⁺ у лиц II группы был достоверно ниже показателей контрольной группы в оба периода исследования. РNa⁺ у шахтеров II группы был достоверно ниже, чем в контрольной как до, так и после рабочей смены. По сравнению с показателями I группы, РNa⁺ до рабочей смены был более низким, а после рабочей смены – различие было достоверным. UNa⁺ до рабочей смены в I и II группах был достоверно ниже уровня контрольной группы. После рабочей смены во II группе наблюдались более низкие показатели UNa⁺ по сравнению с контролем и достоверно более низкие по сравнению с I группой. PCr у рабочих II группы в оба периода исследования не отличался от такового у лиц контрольной группы и был достоверно ниже показателей I группы. UCr до рабочей смены во II группе был самым низким и достоверно отличался от контрольного уровня и показателей в I группе. После рабочей смены UCr был также достоверно ниже, чем в контроле и у лиц I группы. В то же время, у лиц I группы после рабочей смены UCr был также достоверно ниже по сравнению с контрольной груп-

пой. Концентрация хлора в сыворотке крови (PCl⁻) в I и II группах в оба периода исследования была достоверно выше по сравнению с контролем. Уровень UCl⁺ во всех исследуемых группах достоверно не различался. СКФ во всех группах имела тенденцию к снижению после рабочей смены. При сравнении СКФ между группами обнаружили, что наиболее высокий уровень отмечался у шахтеров II группы как до, так и после рабочей смены. При этом статистически достоверные различия определялись между контрольной группой и группами рабочих.

Анализ уровней ИЛ-6, ИЛ-10 и их соотношения (рис. 1) показал, что во всех исследуемых группах наблюдалась тенденция к повышению уровня ИЛ-6 и ИЛ-10 после рабочей смены. Однако достоверным было только повышение уровня ИЛ-10 в группе рабочих с постнагрузочной протеинурией. В этой же группе наблюдалось и достоверное повышение соотношения ИЛ-10/ИЛ-6 после рабо-

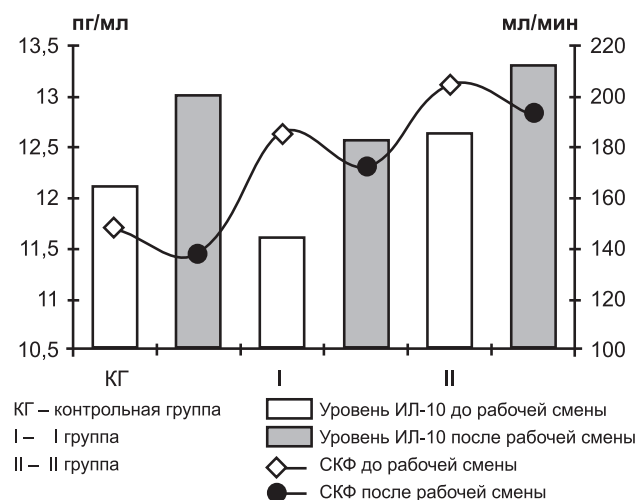


Рис. 1. Уровень ИЛ-10 в крови и СКФ у горнорабочих.

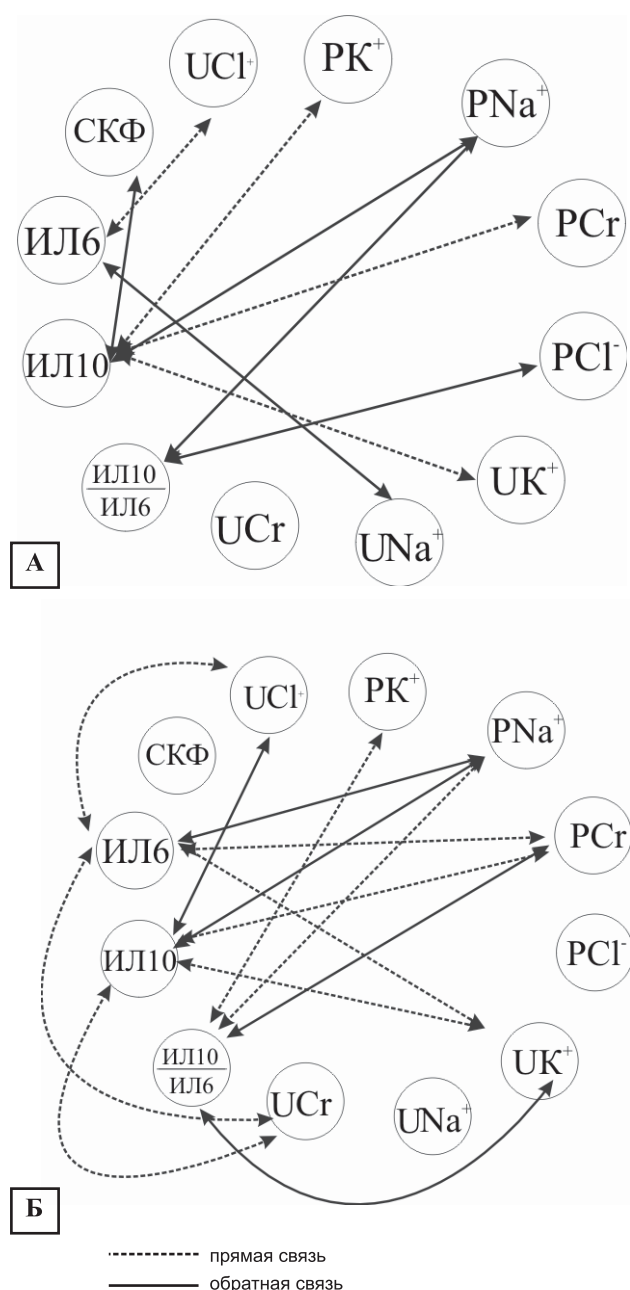


Рис. 2. Коррелятивные связи между изучаемыми показателями во II группе. А – коррелятивные связи до рабочей смены. Б - коррелятивные связи после рабочей смены.

чей смены. При сравнении показателей между группами во II группе до рабочей смены выявлен достоверно более низкий по сравнению с показателями I и контрольной групп уровень ИЛ-6 и достоверно более высокий по сравнению с I группой уровень ИЛ-10.

При анализе коррелятивных связей между ИЛ и показателями ВСО установлено, что у лиц контрольной группы до рабочей смены определялась прямая корреляция между уровнем ИЛ-6 и PNa⁺ ($r=0,526$; $p<0,05$) и обратная корреляция между уровнем ИЛ-6 и UCr ($r=-0,45$; $p<0,05$) и между ИЛ-10 и UK⁺ ($r=-0,539$; $p<0,05$) и ИЛ-10/ИЛ-6 и PNa⁺ ($r=-0,514$; $p<0,05$). После рабочей смены в кон-

трольной группе устойчивых корреляций не обнаружено.

В I группе до работы обнаружена обратная корреляция между ИЛ-6 и UK⁺ ($r=-0,363$; $p<0,05$), после работы наблюдались отрицательные коррелятивные связи между СКФ и PCr ($r=-0,79$; $p<0,001$) и СКФ и PNa⁺ ($r=-0,308$; $p<0,05$).

Во II группе до рабочей смены наблюдалась прямая коррелятивная связь между ИЛ-6 и UNa⁺ ($r=0,61$; $p<0,05$) и ИЛ-10 и PNa⁺ ($r=0,78$; $p<0,05$), и обратная между ИЛ-6 и UCl ($r=-0,61$; $p<0,05$), ИЛ-10 и PCr ($r=-0,67$; $p<0,05$) и ИЛ-10 и UK⁺ ($r=-0,97$; $p<0,001$) (рис.2А). После рабочей смены во второй группе наблюдалась прямая корреляция между ИЛ-6 и PNa⁺ ($r=0,87$; $p<0,001$), обратная корреляция между ИЛ-6 и PCr⁺ ($r=-0,96$; $p<0,001$), ИЛ-6 и UK⁺ ($r=-0,98$; $p<0,001$), ИЛ-6 и UCl ($r=-0,81$; $p<0,05$), ИЛ-6 и UCr ($r=-0,74$; $p<0,05$). Между уровнем ИЛ-10 и PNa⁺ ($r=0,85$; $p<0,001$) наблюдалась прямая корреляция, обратная выявлена между ИЛ-10 и PCr⁺ ($r=-0,86$; $p<0,001$), ($r=-0,88$; $p<0,001$), UK⁺ ($r=-0,91$; $p<0,001$) и UCl ($r=-0,93$; $p<0,001$) (рис.2Б).

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, коррелятивный анализ показал наличие взаимосвязи между изучаемыми показателями. При этом обращает на себя внимание то, что у лиц с ПП до рабочей смены определялось значительно большее число взаимосвязей между уровнями ИЛ и показателями ВСО (8), причем они носили иной характер, чем в контрольной и I группах. После рабочей смены у лиц с ПП число корреляций резко возрастало (до 14), тогда как у рабочих без изменений в моче устойчивых корреляций не было выявлено вообще. Само по себе усиление взаимодействия между различными компонентами ВСО и экспрессией ИЛ у лиц с ПП свидетельствует о значительных усилиях организма, направленных на поддержание гомеостаза.

Следовательно, у рабочих с ПП отмечаются выраженные отличия взаимодействия ВСО и ИЛ, возможно, способствующие появлению ПП.

Установленные до нагрузки различия в уровнях показателей ВСО и ИЛ между лицами с ПП и группами сравнения могут свидетельствовать о наличии хронического процесса в почках, возможно, приводящего к появлению протеинурии.

Наличие у лиц с ПП исходных и стимулированных изменений ИЛ в крови позволяет, с одной стороны, предположить иммунный характер ПП [3, 17], а с другой стороны – вазоактивное влияние ИЛ [15, 16]. О влиянии ИЛ-10 на сосудистый тонус может опосредованно свидетельствовать изменение СКФ [6] (см. рис. 1). Воспалительный характер процес-

сов, происходящих в организме рабочих с ПП, подтверждается увеличением у них соотношения ИЛ-10/ИЛ-6 [13]. В то же время, эти показатели могут свидетельствовать о значительном вазоактивном влиянии [2, 6, 12], которое может приводить к повреждению сосудов [6].

Однако у рабочих с ПП наиболее вероятно предположить наличие воспалительного процесса (возможно хронического, возможно иммунноопосредованного), приводящего к изменению тонуса сосудов клубочка, изменениям СКФ и ВСГ в целом, а также, возможно, и нарушениям проницаемости сосудов. При этом вероятна и обратная взаимосвязь явлений, когда выраженные изменения ВСГ, возникающие у шахтеров при выполнении тяжелых физических нагрузок в условиях гипертермии, приводят к изменениям уровней интерлейкинов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Безусловно, более определенный ответ на вопросы, возникшие в ходе нашего исследования, может дать эксперимент и последующее морфологическое изучение изменений в почках.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Арефьева НА, Азнабаева ЛФ, Коваленко А.Л. и др. Продукция цитокинов у больных риносинуситом при лечении циклофероном. *Лечащий врач* 2000; 4: 45-49
2. Bermudez EA, Rifai N, Buring J. Interrelationships among circulating interleukin-6, C-reactive protein, and traditional cardiovascular risk factors in women. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 2002; 22:1668
3. Anguiera J, Miranda-Guardiola F, Bosch X. Elevation of serum levels of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 and decreased risk of coronary events in patients with unstable angina. *Am Heart J* 2000; 144(5): 811-817
4. Яковлева НВ. Особенности респираторных вирусных инфекций и клеточного иммунитета при острой и хронической бронхолегочной патологии. Автореф.дис. ... доктора мед.наук. СПб 1995
5. Kitching AR, Tipping PG, Huang XR et al. Interleukin-4 and interleukin-10 attenuate established crescentic glomerulonephritis in mice. *Kidney Int* 1997; 52 (1):52-9
6. Niemir ZI, Ondracek M, Dworacki G et al. In situ upregulation of IL-10 reflects the activity of human glomerulonephritides. *Am J Kidney Dis* 1998; 32 (1):80-92
7. Tullus K. et al. Soluble receptors to tumor necrosis factor and interleukine-6 in urine during acute pyelonephritis. *Acta Paediatr* 1997; 86; 1198-1202
8. Fournier A, Achard J. Mnemotechnical note on the use of Cockcroft creatinine clearance formula for the validation of a 24-h urine collection. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 (10): 1677-1678
9. Berger S, Ballo H, Stutte HJ. Immune complex-induced interleukin-6, interleukin-10 and prostaglandin secretion by human monocytes: a network of pro- and anti-inflammatory cytokines dependent on the antigen: antibody ratio. *Eur J Immunol* 1996; 26(6):1297-301
10. Jacobson SH, Lu Y, Brauner A. Soluble interleukin-6 receptor, interleukin-10 and granulocyte colony-stimulating factor in acute pyelonephritis: relationship to markers of bacterial virulence and renal function. *Nephron* 1998; 80 (4): 401
11. Rovin B. Chemokines as therapeutic targets in renal inflammation. *Am J Kidney Dis* 1999; 34(4): 761-767
12. Drazan KE, Wu L, Bullington D, Shaked A. Viral IL-10 gene therapy inhibits TNF-a and IL-1b, not IL-6, in the newborn endotoxemic mouse. *J Pediatr Surg* 1996; 31 (3): 411-414
13. Yu CL, Sun KH, Tsai CY et al. Anti-dsDNA antibody up-regulates interleukin 6, but not cyclooxygenase, gene expression in glomerular mesangial cells: a marker of immune-mediated renal damage? *Inflamm Res* 2001; 50 (1):12-8
14. Klein B. Update of gp130 cytokines in multiple myeloma. *Curr Opin Haematol* 1998; 5: 186-91
15. Chadban SJ, Tesch GH, Lan HY et al. Effect of interleukin-10 treatment on crescentic glomerulonephritis in rats. *Kidney Int* 1997; 51(6):1809-17
16. Williams JA, Pontzer CH, Shacter E. Regulation of macrophage interleukin-6 (IL-6) and IL-10 expression by prostaglandin E2: the role of p38 mitogen-activated protein kinase. *J Interferon Cytokine Res* 2000; 20(3):291-8
17. Кашкин КП. Цитокины иммунной системы: основные свойства и иммунобиологическая активность. *Клин лаб диагностика* 1998; 11:21-32

Поступила в редакцию 11.08.2003 г.