УДК 616.153:616.63:616.62-002-036.12-036.65-055.2
https://doi.org/10.21886/2308-6424-2025-13-2-12-21

Особенности цитокинового профиля крови и мочи у женщин с хроническим рецидивирующим циститом

© Наталья Г. Галкина [1, 2], Алексей В. Галкин [2, 3], Елена В. Токарева [3]

[1] Пензенский государственный университет [Пенза, Россия]
[2] Клиника урологии № 1 [Пенза, Россия]
[3] Пензенская областная клиническая больница им. Н. Н. Бурденко [Пенза, Россия]

Аннотация

Введение. Хронический неосложнённый рецидивирующий цистит подразумевает наличие частых обострений заболевания при отсутствии осложняющих факторов. Важным является поиск маркеров воспалительного процесса в стенке мочевого пузыря, позволяющих определить воспаления при нормальных анализах мочи и прогнозировать риск рецидивирования, тяжесть течения цистита.

Цель исследования. Изучить цитокиновый статус крови и мочи у женщин с хроническим рецидивирующим циститом.

Материалы и методы. В исследование проспективно были включены 33 пациентки с установленным верифицированным диагнозом «Хронический (рецидивирующий) неосложнённый цистит», имеющих жалобы на момент сбора образцов крови и мочи на рецидивирующую хроническую тазовую боль и / или давление, дискомфорт в области мочевого пузыря и симптомы со стороны нижних мочевых путей. Всем пациенткам исследуемой группы выполнялась цистоскопия с биопсией стенки мочевого пузыря. В контрольную группу были включены 27 практически здоровых женщин репродуктивного возраста. Было проведено исследование кальпротектина, ИЛ-6, фактора некроза опухоли и VEGF в образцах мочи и крови женщин в обеих группах.

Результаты. Выявлены достоверные различия по уровню кальпротектина крови, VEGF, ИЛ-6, кальпротектина мочи. Уровень данных цитокинов выше в исследуемой группе в сравнении с контрольной, но при этом критерий Стьюдента при сравнительной оценке уровня кальпротектина в крови приближен к 0,05, поэтому мы считаем, что диагностическую значимость и важность играет именно кальпротектин мочи ($p = 0,0000$). Установлено, что уровень VEGF повышен в моче у пациенток исследуемой группы; можно предположить, что это связано с имеющимися в стенке мочевого пузыря гипоксией и воспалением. В исследуемой группе пациентов была выявлена прямая достоверная корреляционная связь средней силы между наличием хронического рецидивирующего цистита и кальпротектина мочи ($R = 0,649$; $p = 0,0000$) и лейкоцитурии ($R = 0,519$; $p = 0,0000$). У всех пациенток исследуемой группы в ходе патоморфологического исследования стенки мочевого пузыря был обнаружен воспалительный процесс, в 63,6% случаев в сочетании с плоскоклеточной неороговевающей метаплазией уротелия треугольника Lieto. В таком случае нельзя исключить ключевую роль в возникновении расстройств мочеиспускания и / или хронического процесса повышенной экспрессии S100A8/S100A9 на поверхности плоскоклеточного эпителия мочевого пузыря. Из полученных нами данных следует, что кальпротектин вполне может вызвать развитие абактериального воспалительного процесса в стенке мочевого пузыря без повышения уровня лейкоцитов в моче, в связи с чем особенна ценна и высока диагностическая значимость кальпротектина как маркера воспаления в стенке мочевого пузыря в случаях, когда анализы мочи в норме.

Заключение. У женщин с хроническим рецидивирующим циститом повышены уровни кальпротектина, VEGF, ИЛ-6 мочи, при этом лейкоцитурия не влияет на уровень кальпротектина и VEGF в моче. Кальпротектин может служить маркером воспаления в стенке мочевого пузыря, в том числе для оценки активности воспалительного процесса и / или оценки эффективности лечения.

Ключевые слова: хронический рецидивирующий цистит; плоскоклеточная метаплазия; цитокины; воспаление; кальпротектин

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки. **Раскрытие интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. **Этическое заявление.** Исследование выполнено в соответствии с положениями Хельсинкской декларации, пересмотренной в октябре 2013 года (Фортализа, Бразилия). **Информированное согласие.** Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных.

Вклад авторов: Н.Г. Галкина — концепция исследования, разработка дизайна исследования, анализ данных, критический обзор, научное редактирование, научное руководство; А.В. Галкин — обзор публикаций, сбор данных, анализ данных, статистическая обработка данных, написание статьи; Е.В. Токарева— проведение исследований, анализ данных.

✉ **Корреспондирующий автор:** Наталья Геннадиевна Галкина; natalya-galkina@mail.ru
Поступила в редакцию: 26.08.2024. **Принята к публикации:** 11.03.2025. **Опубликована:** 26.04.2025.
Для цитирования: Галкина Н.Г., Галкин А.В., Токарева Е.В. Особенности цитокинового профиля крови и мочи у женщин с хроническим рецидивирующим циститом. *Вестник урологии.* 2025;13(2):12-21. DOI: 10.21886/2308-6424-2025-13-2-12-21.

Specific features of blood and urine cytokine profile in women suffering chronic recurrent cystitis

© Natalya G. Galkina [1, 2], Alexey V. Galkin [2, 3], Elena V. Tokareva [3]

[1] Penza State University [Penza, Russia]
[2] Urology Clinic No. 1, LLC [Penza, Russia]
[3] Burdenko Penza Regional Clinical Hospital [Penza, Russia]

Abstract

Introduction. Chronic uncomplicated recurrent cystitis denotes the presence of frequent disease exacerbations in the absence of complicating factors. The identification of inflammatory process markers within the bladder wall is of paramount importance, as these markers enable the detection of inflammation in cases of normal urine test results and facilitate the prediction of recurrence risk and the severity of cystitis progression.

Objective. To investigate the cytokine profile in blood and urine samples of female patients diagnosed with chronic recurrent cystitis.

Materials & methods. The prospective study enrolled 33 female participants with a confirmed diagnosis of chronic (recurrent) uncomplicated cystitis. At the time of blood and urine sample collection, all study participants presented with recurrent chronic pelvic pain and/or pressure, bladder discomfort, and lower urinary tract symptoms. All patients in the study group underwent cystoscopy within bladder wall biopsy. The control group comprised 27 healthy women of reproductive age. The investigation involved the analysis of calprotectin, interleukin-6 (IL-6), tumour necrosis factor, and vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in urine and blood samples from both study groups.

Results. Statistically significant differences were identified in the levels of blood calprotectin, vascular endothelial growth factor (VEGF), interleukin-6 (IL-6), and urine calprotectin. The concentrations of these cytokines were elevated in the study group compared to the control group. Notably, while Student's t-test for blood calprotectin approached the significance threshold ($p \approx 0.05$), urine calprotectin demonstrated robust diagnostic significance ($p = 0.0000$). Elevated urinary VEGF levels were observed in the study group patients, suggesting an association with bladder wall hypoxia and inflammation. A direct moderate-strength correlation was established between chronic recurrent cystitis and both urinary calprotectin ($R = 0.649$, $p = 0.0000$) and leukocyturia ($R = 0.519$, $p = 0.0000$). Pathomorphological examination of the bladder wall in all study group patients revealed an inflammatory process, with 63.6% of cases exhibiting squamous cell metaplasia of the urothelium in the Lieto triangle. The potential key role of increased S100A8/S100A9 expression on the bladder squamous cell epithelium surface in urinary disorders and chronic processes cannot be ruled out. Importantly, our data indicate that calprotectin can induce abacterial inflammatory processes in the bladder wall without concomitant leukocyte elevation in urine. Consequently, calprotectin exhibits particularly high diagnostic value as a bladder wall inflammation marker, especially in cases of normal urine test results.

Conclusion. The study demonstrates significantly elevated levels of urinary calprotectin, vascular endothelial growth factor (VEGF), and interleukin-6 (IL-6) in female patients diagnosed with chronic recurrent cystitis. Notably, the presence of leukocyturia does not influence urinary calprotectin and VEGF concentrations.Calprotectin emerges as a promising biomarker for detecting inflammation within the bladder wall. Its utility extends to both assessing the inflammatory process activity and evaluating therapeutic efficacy.

Keywords: chronic recurrent cystitis; squamous cell metaplasia; cytokines, inflammation; calprotectin

Financing. The study was not sponsored. **Conflict of interest.** The authors declare no conflicts of interest. **Ethical statement.** The study was designed according to the prescriptions of the Declaration of Helsinki (revised in Fortaleza, Brazil, October 2013). **Informed consent.** All patients signed an informed consent to participate in the study and to process personal data.
Authors' contribution: N.G. Galkina — supervision, study concept, research design development, data analysis, critical review, scientific editing; A.V. Galkin — data acquisition, data analysis, statistical data processing, drafting the manuscript. E.V. Tokareva — conducting additional research, data analysis.
✉ **Corresponding author:** Natalia G. Galkina; natalya-galkina@mail.ru
Received: 26.08.2024. **Accepted:** 11.03.2025. **Published:** 26.04.2025.
For citation: Galkina N.G., Galkin A.V., Tokareva E.V. Specific features of blood and urine cytokine profile in women suffering chronic recurrent cystitis. *Urology Herald.* 2025;13(2):12-21. (In Russ.). DOI: 10.21886/2308-6424-2025-13-2-12-21.

Введение

Известно много заболеваний, сопровождающихся стойкими симптомами со стороны нижних мочевых путей, такими как учащенное мочеиспускание, императивные позывы к нему, болевые ощущения и / или давление в области малого таза, мочевого пузыря.

Одним из таких заболеваний является хронический рецидивирующий цистит, который очень тяжело поддается лечению, особенно при отсутствии осложняющих факторов, которые можно было бы устранить и прервать цикличный процесс рецидивирования воспалительного процесса. Основным терапевтическим мероприятием является назначение антибактериального лечения в соответствии с бактериологическим исследованием мочи. Но что делать, если оно не выявило возбудителя или возбудитель устойчив к исследуемым антибактериальным препаратам? Типичной является ситуация, когда анализы мочи на фоне проведённого лечения в норме, а симптоматика сохраняется.

В мировой литературе в последние годы активно изучается вопрос о ключевой роли воспаления в патогенезе гиперактивного мочевого пузыря, в частности гиперактивный мочевой пузырь рассматривается как начальное проявление симптомов интерстициального цистита. При этом стандартные анализы мочи, как правило, без отклонений от референсных значений [1 – 3].

Нельзя исключить воспаление как причину развития симптомов нижних мочевых путей у мужчин с доброкачественной гиперплазией предстательной железы и симптомами нижних мочевых путей [4].

В настоящее время основным лабораторным критерием для диагностики воспалительного процесса в почках и мочевыводящих путях является уровень лейкоцитов (главным образом нейтрофилов) в моче. Нейтрофилы в моче свидетельствуют об остром воспалительном процессе, хотя в случае хронического воспаления в стенке мочевого пузыря обнаруживаются скопления лимфоцитов и моноцитов. Кроме того, лейкоцитурия — стандартный диагностический критерий воспаления мочевого пузыря, в том случае если оно локализуется и в уротелии. Известно, что воспалительный процесс часто ограничивается поверхностными слоями стенки мочевого пузыря, особенно субуротелием, но, если воспаление локализуется только в слоях, лежащих глубже уротелия, лейкоцитов в моче может и не быть. Исследования последних лет показывают, что воспаление мочевого пузыря, вызванное проникновением иммунных клеток, может дополнительно усиливаться и поддерживаться резидентными клетками, присутствующими как в уротелии, так и в детрузоре, за счёт высвобождения хемокинов.

В таком случае чрезвычайно важным и актуальным является поиск маркеров, содержание которых специфично повышалось бы в моче в ответ на наличие воспаления в стенке мочевого пузыря. Поиск активно ведётся среди достаточно широкого спектра потенциальных биомаркёров, но идеальный не найден [5, 6].

Известно, что инфекционное воспаление является одним из основных ресурсов секреции кальпротектина, S100A8/S100A9 (CLP). После инфицирования бактериями нейтрофилы, макрофаги и моноциты интенсивно экспрессируют и секретируют S100A8/A9 для модуляции воспалительных процессов с индукцией воспалительных цитокинов, активных форм кислорода и оксида азота. S100A8 и S100A9 также обладают антибактериальным потенциалом благодаря своей способности связывать Zn 2+.

Экспрессия и секреция S100A8/9 во время воспаления, вызванного инфекцией, ограничены механизмом регуляции отрицательной обратной связи. Избыточная экспрессия S100A8/A9 усиливает воспалительную реакцию и ускоряет выделение нейтрофилами и макрофагами большего количества цитокинов, что вызывает порочный круг и усугубляет течение заболевания, вызывая хронизацию процесса [7].

Кальпротектин обнаруживается в различных жидкостях организма пропорционально тяжести существующего воспаления. Благодаря высвобождению в очагах воспаления кальпротектин считается индикатором и часто используется в качестве биомаркера для мониторинга воспалительных процессов. Например, фекальный кальпротектин в настоящее время является золотым стандартом для диагностики и мониторинга воспалительных заболеваний кишечника, таких как болезнь Крона и язвенный колит [8]. Более того, сывороточный кальпротектин валидизирован

в качестве биомаркера для мониторинга различных (хронических) воспалительных заболеваний, например, ревматоидного артрита [9, 10].

Высвобождение кальпротектина может вызывать секрецию множества цитокинов в воспалительных клетках для поддержания и обострения воспаления. S100A8/A9 стимулирует выработку фактор некроза опухоли альфа (ФНО-альфа) и ИЛ-6 [7].

ИЛ-6 является провоспалительным цитокином, участвующим в острофазовом ответе на широкий спектр физиологических нарушений, его мониторинг является очень чувствительным диагностическим тестом острого воспаления.

ФНО-альфа — это цитокин, который оказывает плейотропное действие на различные типы клеток, в основном вырабатываемый активированными макрофагами, Т-лимфоцитами и естественными клетками-киллерами. Известно, что он функционально запускает ряд различных воспалительных молекул, включая другие цитокины и хемокины. Он был идентифицирован как основной регулятор воспалительных реакций и, как известно, участвует в патогенезе некоторых воспалительных и аутоиммунных заболеваний. Физиологически ФНО-альфа является важнейшим компонентом для нормального иммунного ответа. ФНО-альфа может активировать иммунную систему для регуляции; однако ненадлежащее или избыточное производство ФНО-альфа может быть вредным и привести к заболеванию. Ревматоидный артрит, воспалительное заболевание кишечника, псориатический артрит, псориаз и неинфекционный увеит вызваны аномальной секрецией ФНО-альфа; таким образом, ФНО-альфа можно классифицировать как ключевой фактор патологического развития [11].

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) стимулирует пролиферацию и дифференцировку эндотелиальных клеток, увеличивает проницаемость сосудов, опосредует эндотелий-зависимую вазодилатацию и поддерживает выживание сосудов, предотвращая апоптоз эндотелия. Кроме того, VEGF стимулирует хемотаксис моноцитов и экспрессию молекул адгезии. Гипоксия является основным стимулом для экспрессии и / или производства VEGF. Несколько факторов роста и цитокинов, таких как эпидермальный фактор роста, трансформирующий фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, инсулиноподобный фактор роста I, ангиотензин II, интерлейкин-1 и IL-6, также обладают потенциалом для повышения экспрессии VEGF [12].

Каждый из перечисленных цитокинов может играть важную роль в патогенезе хронизации воспаления в стенке мочевого пузыря и, возможно, является его потенциальным маркёром.

Цель исследования: изучить цитокиновый статус крови и мочи у женщин с хроническим рецидивирующим циститом.

Материалы и методы

В исследование проспективно были включены 33 пациентки с диагнозом «Хронический (рецидивирующий) неосложненный цистит», отвечающие критериям включения:

1. Женщины в возрасте от 18 до 70 лет.
2. Наличие на момент сбора образцов крови и мочи жалоб на рецидивирующую хроническую тазовую боль и / или давление, дискомфорт, воспринимаемые как связанные с мочевым пузырем, сопровождающиеся по крайней мере одним симптомом со стороны нижних мочевых путей: учащённое мочеиспускание, императивные позывы к нему, дизурия, ургентное недержание мочи.
3. Наличие верифицированного диагноза «Рецидивирующий хронический неосложнённый цистит».
4. Уровень креатинина сыворотки крови в пределах нормы.

Пациентка не была включена в исследование, если к ней можно было применить следующее: наличие выделений из влагалища, мочекаменной болезни, перенесённого или текущего лучевого цистита, наличие анатомических или функциональных причин расстройств мочеиспускания, в том числе нейрогенных (рассеянный склероз, инсульт и др.), сахарного диабета, острой или хронической почечной недостаточности; клинически выраженных кардиоваскулярных или цереброваскулярных заболеваний в течение 6 месяцев до скрининга, таких как инфаркт миокарда, неконтролируемая стенокардия, выраженная желудочковая аритмия, инсульт и тяжёлая сердечная недостаточность (класс NYHA ≥ III); текущее или перенесённое зло-

качественное заболевание органов таза, туберкулёз; алкогольная и (или) наркотическая зависимость, текущая или в анамнезе, а также беременность и кормление грудью.

Допускалось применение гормональных препаратов, в том числе местной гормональной заместительной терапии, профилактическое лечение обострений хронического цистита препаратами клюквы, инстилляциями с вязкоэластичными протекторами слизистой мочевого пузыря в течение как минимум 1 месяца на день сбора образцов крови и мочи для анализа на цитокины.

Скрининг включал сбор жалоб, анамнеза, физикальный осмотр, клинический и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, ультразвуковое исследование (УЗИ) мочевого пузыря и почек, тест мочи на беременность. Одновременно с забором на указанные анализы были собраны образцы крови и мочи для определения в них уровней цитокинов. В случае удовлетворения критериям включения / невключения проводили исследование ранее полученных образцов для определения уровня кальпротектина, ИЛ-6, фактора некроза опухоли и VEGF.

Всем пациенткам исследуемой группы выполняли цистоскопию с биопсией стенки мочевого пузыря. Биопсийный материал забирали с использованием способа «холодных» щипцов из наиболее патологически измененных областей, в обязательном порядке из области мочепузырного треугольника и боковой и / или задней стенок мочевого пузыря.

При наличии эпизода обострения цистита, подтверждённого лейкоцитурией по данным ОАМ, проводили лечение в соответствии с клиническими рекомендациями. В таком случае цистоскопическое исследование выполняли после купирования острого воспалительного процесса.

В качестве контрольной группы были включены 27 практически здоровых женщин репродуктивного возраста, обследование которых также включало сбор жалоб, анамнеза, физикальный осмотр, анализ крови на креатинин, общий анализ мочи, тест мочи на беременность. Также были собраны кровь и моча для последующего определения уровней цитокинов.

Добровольное информированное согласие на участие в данном исследовании было получено от каждой женщины, принявшей участие.

Исследование цитокинов мочи и крови. Для исследования цитокинов собирали среднюю порцию мочи в стерильную ёмкость. Образцы центрифугировали на скорости около 1000 – 2000 g в течение 10 – 15 минут при температуре 4 °C перед аликвотированием. Супернатанты разделяли на аликвоты в полипропиленовых пробирках объёмом 1,5 мл (1 мл/пробирка) и хранили при температуре ≤ -20 °C.

Образцы крови были получены путём стандартной процедуры венепункции в пробирки с активатором образования сгустка. Через 30 – 60 минут нахождения при комнатной температуре пробирки центрифугировали при 1000 g в течение 10 минут при комнатной температуре.

Аликвоты отбирали из середины объёма полученной сыворотки крови в чистые полипропиленовые пробирки объёмом 0,5 мл, их немедленно помещали в морозильную камеру для хранения при температуре ниже 20 °C.

Для определения кальпротектина использован набор MRP8/14 S100A8/A9 Calprotectin / Кальпротектин [Набор для количественного определения кальпротектина в образцах биологических жидкостей человека иммуноферментным методом] («BÜHLMANN Laboratories AG», Schönenbuch, Switzerland). Интерлейкин-6 (ИЛ-6), фактор некроза опухолей-альфа (ФНО-альфа), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) определяли с использованием набора реагентов для иммуноферментного анализа концентрации цитокинов (АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия). Количественное определение уровня биомаркеров в образцах проводилось иммуноферментным методом ELISA в соответствии с инструкциями производителей.

Статистический анализ. Для статистической обработки данных использовали пакет программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Нормальность распределения проверяли с помощью теста Колмогорова-Смирнова-Lilliefors. Описание показателей представлены в виде средних значений с отклонением на величину стандартной ошибки — M ± SD, медиан и квартилей — Me [LQ; UQ]. Сравнение количественных показателей проводили с применением непараметрических методов с использо-

ванием критериев серий Wald-Wolfowitz runtest, Mann-Whiney U-test. Для оценки силы связи (корреляции) между показателями был проведён корреляционный анализ по Spearman. За статистически значимые принимали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Средний возраст пациенток в исследуемой группе составил 43,4 ± 13,1, в контрольной группе — 24,4 ± 3,1 лет.

Результаты сравнительной оценки цитокинов в исследуемой и контрольной группах представлены в таблице 1.

Сравнение двух вышеуказанных групп показало следующие различия между ними по анализируемым показателям:

1. Среднее значение параметра VEGF крови у контрольной группы составляет 281,24 ± 89,04 (Me — 251,20 [110,80; 259,30]), что в 1,5 раза больше, чем в группе ХРЦ, — 183,86 ± 20,25 (Me — 157,40 [103,70; 222,00]) (Mann-Whitney U-Test, p = 0,2316, разница недостоверна).

2. Среднее значение параметра ИЛ-6 крови у контрольной группы составляет 0,43 ± 0,09 (Me — 0,21 [0,01; 0,90]), что в 2,1 раза меньше, чем в группе ХРЦ, — 0,91 ± 0,27 (Me — 0,51 [0,04;0,90]) (Mann-Whitney U-Test, p = 0,1979, разница недостоверна).

3. Среднее значение параметра CLP крови у контрольной группы составляет 85,15 ± 10,14 (Me — 60,90 [57,00; 140,00]), что в 1,3 раза достоверно меньше, чем в группе ХРЦ, — 107,89 ± 8,24 (Me — 97,80 [79,40; 127,40]) (Mann-Whitney U-Test, p = 0,0456).

4. Среднее значение параметра ФНО-альфа крови у контрольной группы составляет 0,96 ± 0,11 (Me — 0,87 [0,50; 1,40]), что практически не отличается (в 1,1 раза больше) от значений в группе ХРЦ, — 0,88 ± 0,19 (Me — 0,50 [0,10; 0,90]) (Mann-Whitney U-Test, p = 0,0781, разница недостоверна).

5. Среднее значение параметра VEGF мочи у контрольной группы составляет 75,31 ± 21,34 (Me — 42,90 [21,80; 65,30]), что в 2,3 раза достоверно меньше, чем в группе ХРЦ, — 175,62 ± 34,22 (Me — 94,40 [79,70; 197,10]) (Mann-Whitney U-Test, p = 0,0017).

6. Среднее значение параметра ИЛ-6 мочи у контрольной группы составляет 7,05 ± 3,15 (Me — 0,90 [0,01;3, 00]), что в 3,3 раза достоверно меньше, чем в группе ХРЦ, — 23,59 ± 10,43 (Me — 2,80 [1,10; 13,00]) (Mann-Whitney U-Test, p = 0,0223).

7. Среднее значение параметра CLP мочи у контрольной группы составляет 55,14 ± 11,16 (Me — 31,10 [13,20; 106,40]), что в 3,9 раза достоверно меньше, чем в группе ХРЦ, — 216,48 ± 17,88 (Me — 266,10 [173,50;281,70]) (Mann-Whitney U-Test, p = 0,0000).

8. Среднее значение параметра ФНО-альфа мочи у контрольной группы состав-

Таблица 1. Сравнительная оценка уровней цитокинов крови и мочи в группах сравнения
Table 1. *Comparative estimate of blood and urine cytokine levels in the matched groups*

Цитокины | *Cytokine*	Женщины с ХРЦ | *Patients with RC* (n = 33)	Контрольная группа | *Controls* (n = 27)	*P*
Кровь, пг/мл | *Blood, pg/mL*			
VEGF	183,86 ± 20,25	281,24 ± 89,04	0,234
IL-6	0,91 ± 0,27	0,43 ± 0,09	0,203
CLP	107,89 ± 8,24	85,15 ± 10,14	0,046
TNF-α	0,88 ± 0,19	0,96 ± 0,11	0,08
Моча, пг/мл | *Urine, pg/mL*			
VEGF	175,62 ± 34,22	75,31 ± 21,34	0,002
IL-6	23,59 ± 10,43	7,05 ± 3,15	0,023
CLP	216,48 ± 17,88	55,14 ± 11,16	0,000
TNF-α	1,59 ± 0,84	1,10 ± 0,30	0,57
Лейкоцитурия *Leukocyturia*	0,58 ± 0,75	0,00 ± 0,00	0,003
Эритроцитурия *Erythrocyturia*	0,42 ± 0,83	0,33 ± 0,68	0,87

Примечание. ХРЦ — хронический рецидивирующий цистит; VEGF — фактор роста эндотелия сосудов; IL — интерлейкин; CLP — кальпротектин; TNF-α — фактор некроза опухоли альфа
Notes. *RC — recurrent cystitis; VEGF — vascular endothelial growth factor; IL — interleukin; CLP — calprotectin; TNF-α — tumor necrosis factor alfa*

ляет 1,10 ± 0,30 (Me — 0,60 [0,10; 1,10]), что в 1,5 раза меньше, чем в группе ХРЦ, — 1,59 ± 0,84 (Me — 0,50 [0,20; 1,00]) (Mann-Whitney U-Test, p = 0,5711, разница недостоверна).

9. Среднее значение параметра лейкоцитурия у контрольной группы составляет 0,00 и совпадает со средним значением в группе, где параметр ХРЦ = 10,58 ± 0,75 (Me — 1,03 [1,02; 1,03]) (Mann-Whitney U-Test, p = 0,03, разница достоверна).

10. Среднее значение параметра эритроцитурия у контрольной группы составляет 0,33 ± 0,68 (Me — 5,50 [5,50; 5,50]), что практически не отличается от среднего значения в группе ХРЦ, — 0,42 ± 0,83 (Me — 5,50 [5,00; 6,50]) (Mann-Whitney U-Test, p = 0,87, разница недостоверна).

Таким образом, в ходе попарного сравнения были выявлены достоверные различия по параметрам CLP крови, CLP мочи, VEGF мочи и ИЛ-6 мочи. По остальным показателям достоверных различий выявлено не было.

Полученные данные свидетельствует о повышенном содержании кальпротектина в крови и в моче в исследуемой группе в сравнении с контрольной, но при этом критерий Стьюдента при сравнительной оценке уровня кальпротектина в крови приближен к 0,05, поэтому мы считаем, что диагностическую значимость и важность играет именно кальпротектин мочи (p = 0,000001). Кроме того, на уровень кальпротектина крови значительно влияет многие воспалительные заболевания других органов и систем.

Мы также провели корреляционный анализ среди всех шестидесяти женщин, принявших участие в исследовании. Учитывались VEGF крови, ИЛ-6 крови, CLP крови, CLP мочи, ФНО-альфа крови, VEGF мочи, ИЛ-6 мочи, ФНО-альфа мочи, лейкоцитурия и эритроцитурия.

Результаты корреляционного анализа (Spearman Rank Order Correlations) представлены в таблице 2 в виде значений коэффициента корреляции R и уровня достоверности p.

В исследуемой группе пациентов была выявлена прямая достоверная корреляционная связь средней силы между следующими показателями:

1. ХРЦ и CLP мочи (R = 0,649; p = 0,0000), ближе к сильной связи.
2. ХРЦ и лейкоцитурия (R =0,519; p = 0,0000).

Кроме того, была выявлена прямая достоверная умеренная корреляционная связь между:

1. VEGF крови и ИЛ-6 крови (R = 0,489; p = 0,0001).

Таблица 2. Результаты корреляционного анализа уровней цитокинов
Table 2. *Summary of Spearman rank correlation analysis of cytokines levels*

Цитокины *Cytokine*		Кровь | *Blood*				Моча | *Urine*				Эритроцитурия *Erythrocyturia*	Лейкоцитурия *Leukocyturia*	Наличие ХРЦ *Recurrentcystitis*
		VEGF	IL-6	CLP	TNF-α	CLP	TNF-α	VEGF	IL-6			
Кровь | *Blood*	VEGF	–	**0,489**	-0,038	0,001	0,001	**0,357**	-0,060	-0,121	0,084	0,159	0,156
	IL-6	**0,489**	–	**0,389**	-0,050	0,245	**0,395**	0,221	0,234	-0,072	0,064	0,168
	CLP	0,038	**0,389**	–	-0,125	0,237	0,032	0,164	0,193	-0,147	0,088	**0,260**
	TNF-α	0,001	0,050	-0,125	–	0,078	0,001	0,228	0,112	0,163	0,008	0,074
Моча | *Urine*	CLP	0,001	0,245	0,237	0,078	–	0,029	**0,427**	**0,441**	0,135	**0,429**	**0,649**
	TNF-α	**0,357**	**0,395**	0,032	0,001	0,029	–	-0,151	0,046	0,002	0,110	0,229
	VEGF	0,060	0,221	0,164	0,228	**0,427**	0,151	–	**0,346**	0,145	**0,399**	**0,459**
	IL-6	0,120	0,235	0,193	0,112	**0,441**	0,046	**0,346**	–	0,040	**0,362**	**0,298**
Эритроцитурия *Erythrocyturia*		0,084	0,072	-0,147	0,163	0,135	0,002	0,142	0,040	–	0,202	0,029
Лейкоцитурия *Leukocyturia*		0,159	0,064	0,088	0,008	**0,429**	0,110	**0,399**	**0,362**	0,202	–	**0,519**
Наличие ХРЦ *Recurrentcystitis*		0,156	0,168	**0,260**	0,074	**0,649**	0,229	**0,459**	**0,298**	0,029	**0,519**	–

Примечания. 1) Полужирным выделены достоверные значения коэффициента корреляции. В зависимости от значения коэффициента корреляции различают следующие корреляционные связи: сильная или тесная (при R> 0,70); средняя (при 0,50 <R<= 0,70); умеренная (при 0,30 <R<= 0,50); слабая (при 0,20 <R<= 0,30); очень слабая (при R< 0,20). Корреляционная зависимость считается достоверной, если p < 0,05. 2) ХРЦ — хронический рецидивирующий цистит; VEGF — фактор роста эндотелия сосудов; IL — интерлейкин; CLP — кальпротектин; TNF-α — фактор некроза опухоли

Notes. *1) Significant values of the correlation coefficient are shown in bold italics. Depending on the value of the correlation coefficient, the following correlation relationships are distinguished: strong, or close, with a correlation coefficient of R > 0.70; average (with 0.50 < R <= 0.70); moderate (with 0.30 < R <= 0.50); weak (with 0.20 < R <= 0.30); very weak (with R < 0.20). The correlation dependence is considered significant if p < 0.05. 2) RC — recurrent cystitis; VEGF — vascular endothelial growth factor; IL — interleukin; CLP — calprotectin; TNF-α — tumor necrosis factor*

2. CLP мочи и ИЛ-6 мочи (R = 0,441; p = 0,0004)
3. VEGF мочи и ХРЦ (R = 0,459; p = 0,0012)
4. CLP мочи и лейкоцитурия (R = 0,4288; p = 0,0006)
5. ИЛ-6 крови и ФНО-α мочи (R = 0,395; p = 0,0018)
6. ИЛ-6 крови и CLP крови (R = 0,389; p = 0,0021)
7. CLP мочи и VEGF мочи (R = 0,427; p = 0,0027)
8. VEGF мочи и лейкоцитурия (R = 0,399; p = 0,0034)
9. ИЛ-6 мочи и лейкоцитурия (R = 0,362; p = 0,0045)
10. VEGF крови и ФНО-α мочи (R = 0,357; p = 0,0051)
11. VEGF мочи и ИЛ-6 мочи (R = 0,346; p = 0,0114)

Также была выявлена прямая достоверная корреляционная связь слабой силы между параметрами:

1. CLP крови и ХРЦ (R = 0,26; p = 0,0446)
2. ИЛ-6 мочи и ХРЦ (R = 0,298; p = 0,0210)

Полученные данные указывают на то, что наиболее сильная корреляционная связь отмечена между симптомами и уровнем кальпротектина в моче и лейкоцитурией. Учитывая, что лейкоциты в осадке мочи представлены в основном нейтрофилами, которые способны вырабатывать кальпротектин, логично было предполагать, что источником кальпротектина в моче являются именно нейтрофилы. Острое воспаление, локализующееся в уротелии, ведёт к повышению уровня лейкоцитов в моче и, как следствие, кальпротектина и ИЛ-6. В таком случае диагностическая ценность определения уровня кальпротектина и ИЛ-6 в моче приравнивается к определению лейкоцитов в моче.

При попарном сравнении уровня цитокинов между исследуемой и контрольной группами достоверное различие по уровню содержания кальпротектина в моче было особенно выраженным, p=0,000001, в отличие от лейкоцитурии — p=0,003, поэтому был проведён сравнительный анализ в исследуемой группе, направленный на оценку различия уровней кальпротектина, ИЛ-6, ФНО-альфа, VEGF в крови и моче в зависимости от наличия или отсутствия повышенного содержания лейкоцитов в моче (табл. 3).

Согласно полученным данным, у женщин в исследуемой группе повышение уровня ИЛ-6 в моче ассоциировано с повышением содержания в ней лейкоцитов (p = 0,012), в то время как лейкоцитурия не связана с уровнями VEGF, ФНО-альфа, кальпротектина в крови и моче, ИЛ-6 крови.

Видеоцистоскопия с биопсией стенки мочевого пузыря позволила исключить злокачественные новообразования мочевого пузыря. В ходе морфологического исследования биоптатов хронический воспалительный процесс был обнаружен у всех 33 пациенток (100%), в 63,6% случаев (у 21 женщины) сочетался с плоскоклеточной метаплазией уротелия треугольника Lieto.

Таблица 3. Сравнительная оценка уровня цитокинов в зависимости от наличия или отсутствия лейкоцитурии
Table 3. *Comparative evaluation of cytokine levels according to the detection or absence of leukocyturia*

Цитокины | *Cytokine*	Лейкоцитурия есть | *Leukocyturia "+"* (n = 17)	Лейкоцитурии нет | *Leukocyturia "-"* (n =16)	*P*
Кровь, пг/мл | *Blood, pg/mL*			
VEGF	191,31 ± 125,17	175,93 ± 109,68	0,732
IL-6	0,61 ± 0,63	1,2 ± 2,1	0,587
CLP	111,21 ± 49,55	104,36 ± 46,26	0,471
TNF-α	0,66 ± 0,65	1,11 ± 1,45	0,663
Моча, пг/мл | *Urine, pg/mL*			
CLP	197,15 ± 107,86	237,01 ± 96,06	0,256
VEGF	124,75 ± 154,36	229,67 ± 225,79	0,063
IL-6	3,48 ± 5,1	44,96 ± 81,72	0,012
TNF-α	0,9 ± 1,28	2,3 ± 6,86	0,574

Примечание. VEGF — фактор роста эндотелия сосудов; IL — интерлейкин; CLP — кальпротектин; TNF-α — фактор некроза опухоли
Note. *VEGF — vascular endothelial growth factor; IL — interleukin; CLP — calprotectin; TNF-α — tumor necrosis factor*

Обсуждение

Нами установлено, что хроническое воспаление в стенке мочевого пузыря, в сочетании с рецидивирующей хронической тазовой болью, связанной с мочевым пузырем, сопровождающейся симптомами со стороны нижних мочевых путей, такими как учащённое мочеиспускание, императивные позывы к нему, дизурия, ургентное недержание мочи, ассоциировано с повышением уровня кальпротектина в моче независимо от содержания лейкоцитов в моче. Кальпротектин попадает в мочу при разрушении нейтрофилов или (в меньшей степени) макрофагов из воспаленной слизистой оболочки мочевого пузыря. При воспалительном процессе, сопровождающимся «оголением», или «денудацией», уротелия кальпротектин может проникать в просвет мочевого пузыря не только из уротелия, но из лежащих глубже его слоёв.

Данные нашего исследования свидетельствуют о том, что у пациенток с хронической тазовой болью, связанной с мочевым пузырем, сопровождающейся симптомами со стороны нижних мочевых путей, такими как учащённое мочеиспускание, императивные позывы к нему, дизурия, ургентное недержание мочи, имеющих подтвержденный хронический рецидивирующий цистит, воспалительный процесс присутствует в стенке мочевого пузыря даже при отсутствии патологических изменений в моче, а в области мочепузырного треугольника в большинстве случаев ассоциирован с наличием вагинальной метаплазии эпителия.

Переходноклеточный эпителий мочевого пузыря в норме не экспрессирует на своей поверхности S100A8/S100A9, соответственно, не образует кальпротектин. Доказано, что нормальный многослойный плоский эпителий способен экспрессировать S100A8/S100A9 в небольших количествах, но экспрессия может значительно увеличиваться при большом спектре различных воздействий, расцениваемых как опасность, например, при воспалении [13].

Частые обострения цистита могут быть связаны с дефицитом барьерной функции зонтичных клеток и / или нарушением регенеративной способности эпителия мочевого пузыря вследствие хронического субуротелиального воспаления, активации и усиления апоптоза уротелиальных клеток, ингибирования пролиферации базальных клеток и созревания апикальных клеток [13]. Мы обнаружили, что уровень VEGF повышен в моче у пациенток исследуемой группы; можно предположить, что это связано с имеющимися у них гипоксией и воспалением [14].

Но в то же время кальпротектин может представлять собой важный этап механизма положительной обратной связи в инициировании и усилении воспалительного процесса, поскольку непосредственно индуцирует синтез провоспалительных хемокинов и цитокинов [15].

В нашем исследовании в 63,6% случаев хронический воспалительный процесс в области мочепузырного треугольника был ассоциирован с неороговевающей плоскоклеточной метаплазией уротелия. В таком случае нельзя исключить ключевую роль в возникновении расстройств мочеиспускания и / или хронического процесса повышенной экспрессии S100A8/S100A9 на поверхности плоскоклеточного эпителия мочевого пузыря

Эту теорию подтверждает проведённый ранее транскриптомный анализ, показавший сверхэкспрессию генов в эпителии треугольника Lieto у девочек с расстройствами мочеиспускания, участвующих в пути антимикробных пептидов, в том числе S100A9 [16].

Можно предположить, что в ответ на действие неких «стрессовых» факторов плоскоклеточная, или «вагинальная», метаплазия уротелия, в некоторых (но не всех) случаях реагирует экспрессией генов S100A8/S100A9, что влечёт за собой развитие воспалительной реакции за счет действия кальпротектина [17]. Плоскоклеточная метаплазия уротелия часто ассоциируется с хроническим воспалением [18], предполагается, что вагинальная метаплазия не является следствием хронического воспаления, но ее наличие может предрасполагать к хронической инфекции [19].

При уротелиальной карциноме также отмечается экспрессия генов, которые, активируя воспаление в стенке мочевого пузыря, облегчают инвазивную способность опухоли. Процесс выработки кальпротектина в этом случае также не сопровождается пиурией [17].

Получается, что кальпротектин вполне может вызвать развитие абактериального

воспалительного процесса в стенке мочевого пузыря без повышения уровня лейкоцитов в моче, в связи с чем особенно ценна и высока диагностическая значимость кальпротектина как маркера воспаления в стенке мочевого пузыря в случаях, когда анализы мочи в норме.

Заключение

Результаты исследования показали, что у женщин с хроническим рецидивирующим циститом повышены уровни кальпротектина, VEGF, ИЛ-6 мочи, при этом лейкоцитурия не влияет на уровень кальпротектина и VEGF в моче. Кальпротектин может служить маркером воспаления в стенке мочевого пузыря, в том числе для оценки активности воспалительного процесса и / или оценки эффективности лечения. На наш взгляд, требуются дальнейшие исследования роли S100A8/S100A9 в развитии и поддержании воспалительного процесса в стенке мочевого пузыря при хронических рецидивирующих циститах.

Список литературы | References

1. Aydin A, Ahmed K, Zaman I, Khan MS, Dasgupta P. Recurrent urinary tract infections in women. Int Urogynecol J. 2015;26(6):795-804. DOI: 10.1007/s00192-014-2569-5
2. Peyronnet B, Mironska E, Chapple C, Cardozo L, Oelke M, Dmochowski R, Amarenco G, Gamé X, Kirby R, Van Der Aa F, Cornu JN. A Comprehensive Review of Overactive Bladder Pathophysiology: On the Way to Tailored Treatment. EurUrol. 2019;75(6):988-1000. DOI: 10.1016/j.eururo.2019.02.038
3. Mansfield KJ, Chen Z, Moore KH, Grundy L. Urinary Tract Infection in Overactive Bladder: An Update on Pathophysiological Mechanisms. Front Physiol. 2022;13:886782. DOI: 10.3389/fphys.2022.886782
4. Ficarra V, Rossanese M, Zazzara M, Giannarini G, Abbinante M, Bartoletti R, Mirone V, Scaglione F. The role of inflammation in lower urinary tract symptoms (LUTS) due to benign prostatic hyperplasia (BPH) and its potential impact on medical therapy. CurrUrolRep. 2014;15(12):463. DOI: 10.1007/s11934-014-0463-9
5. Jiang YH, Jhang JF, Hsu YH, Ho HC, Wu YH, Kuo HC. Urine cytokines as biomarkers for diagnosing interstitial cystitis/bladder pain syndrome and mapping its clinical characteris-tics. Am J PhysiolRenalPhysiol. 2020;318(6):F1391-F1399. DOI: 10.1152/ajprenal.00051.2020
6. Armbruster CE, Smith SN, Mody L, Mobley HLT. Urine Cytokine and Chemokine Levels Predict Urinary Tract Infection Severity Independent of Uropathogen, Urine Bacterial Burden, Host Genetics, and Host Age. InfectImmun. 2018;86(9):e00327-18. DOI: 10.1128/IAI.00327-18
7. Wang S, Song R, Wang Z, Jing Z, Wang S, Ma J. S100A8/A9 in Inflammation. Front Immunol. 2018;9:1298. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01298
8. Konikoff MR, Denson LA. Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis. 2006;12(6):524-534. DOI: 10.1097/00054725-200606000-00013
9. Austermann J, Spiekermann C, Roth J. S100 proteins in rheumatic diseases. Nat Rev Rheumatol. 2018;14:528–541. DOI: 10.1038/s41584-018-0058-9
10. Ometto F, Friso L, Astorri D, Botsios C, Raffeiner B, Punzi L, Doria A. Calprotectin in rheumatic diseases. ExpBiolMed (Maywood). 2017;242(8):859-873. DOI: 10.1177/1535370216681551
11. Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, Lee SR, Yang SH. The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF-α) in Autoimmune Disease and Current TNF-α Inhibitors in Therapeutics. Int J MolSci. 2021;22(5):2719. DOI: 10.3390/ijms22052719
12. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. FASEB J. 1999;13(1):9-22. PMID: 9872925
13. Wilkinson MM, Busuttil A, Hayward C, Brock DJ, Dorin JR, Van Heyningen V. Expression pattern of two related cystic fibrosis-associated calcium-binding proteins in normal and abnormal tissues. J Cell Sci. 1988;91 (Pt 2):221-230. DOI: 10.1242/jcs.91.2.221
14. Ramakrishnan S, Anand V, Roy S. Vascular endothelial growth factor signaling in hypoxia and inflammation. J NeuroimmunePharmacol. 2014;9(2):142-160. DOI: 10.1007/s11481-014-9531-7
15. Ehrchen JM, Sunderkötter C, Foell D, Vogl T, Roth J. The endogenous Toll-like receptor 4 agonist S100A8/S100A9 (calprotectin) as innate amplifier of infection, autoimmunity, and cancer. J LeukocBiol. 2009;86(3):557-566. DOI: 10.1189/jlb.1008647
16. Zeber-Lubecka N, Kulecka M, Załęska-Oracka K, Dąbrowska M, Bałabas A, Hennig EE, Szymanek-Szwed M, Mikula M, Jurkiewicz B, Ostrowski J. Gene Expression-Based Functional Differences between the Bladder Body and Trigonal Urothelium in Adolescent Female Patients with Micturition Dysfunction. Biomedicines. 2022;10(6):1435. DOI: 10.3390/biomedicines10061435
17. Yano J, Lilly E, Barousse M, Fidel PL Jr. Epithelial cell-derived S100 calcium-binding proteins as key mediators in the hallmark acute neutrophil response during Candida vaginitis. Infect Immun.2010;78(12):5126-5137. DOI: 10.1128/IAI.00388-10
18. Widran J, Sanchez R, Gruhn J. Squamous metaplasia of the bladder: a study of 450 patients. J Urol. 1974;112(4):479-482. DOI: 10.1016/s0022-5347(17)59765-7
19. Long ED, Shepherd RT. The incidence and significance of vaginal metaplasia of the bladder trigone in adult women. Br J Urol. 1983;55(2):189-194. DOI: 10.1111/j.1464-410x.1983.tb06553.x

Сведения об авторах | Information about the authors

Наталья Геннадиевна Галкина — канд. мед. наук | **Natalia G. Galkina** — Cand.Sc.(Med)
https://orcid.org/0000-0001-8548-2288; *natalya-galkina@mail.ru*

Алексей Викторович Галкин | **Alexey V. Galkin**
https://orcid.org/0000-0003-4682-2969; *galkin81@inbox.ru*

Елена Владимировна Токарева | **Elena V. Tokareva**
https://orcid.org/0009-0003-9451-9216; *tokareva.elena@mail.ru*