

# **Цитокины сыворотки крови и мочи у детей с инфекцией мочевой системы и возможности профилактики рецидивов с использованием биопрепаратов и иммуномодуляторов.**

Осипович С.А., ассистент 1-й кафедры детских болезней

Сукало А.В., доктор медицинских наук, профессор 1-й кафедры детских болезней

УО «Белорусский государственный медицинский университет».

The levels of cytokines in urine and blood samples in children with UTIs and using of probiotics and immunomodulators for prevention of recurrence.

Osipovich S.A., Sukalo A.V.

Резюме: в данной статье приведены результаты анализа уровня цитокинов ( ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- $\alpha$ ) в сыворотке крови и мочи у детей с различными вариантами ИМС в динамике заболевания. Выявлены наиболее значимые изменения цитокинового профиля, позволяющие оценить степень выраженности воспалительного процесса в мочевых путях и эффективность проводимого лечения.

Summary: This article presents the results of analysis of cytokine profile (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ) in serum and urine samples in children with UTIs. Identified significant cytokine profile changes allow to define the severity of inflammation and the effectiveness of treatment.

Ключевые слова: цитокины, ИМС, лечение, профилактика рецидивов.

Key words: cytokine profile, UTI, treatment, prevention of recurrence.

Проблема инфекций мочевой системы имеет большое значение в связи с неуклонным ростом этой патологии у детей, о чем свидетельствуют ежегодные популяционные исследования. По данным некоторых авторов, за последние десятилетия отмечено двукратное увеличение частоты встречаемости ИМС в детской популяции. При этом рост заболеваемости обусловлен не только улучшением диагностических возможностей и повышением качества диспансеризации детей, но и возросшей антибиотикоустойчивостью микроорганизмов, а также увеличением количества детей с аномалиями развития органов мочевой системы и другими неблагоприятными преморбидными состояниями [7].

Пиелонефрит занимает ведущее место по частоте в практике современной педиатрической нефрологии и, по данным различных авторов, составляет до 70% от всех ИМС. Среди детей раннего возраста эта патология встречается чаще, чем острая респираторная инфекция. Развитие заболевания возможно у новорожденных.

Рецидивирующее течение пиелонефрита, особенно на фоне урологических аномалий нередко приводит к формированию хронической почечной недостаточности. Несмотря на применение современных антибактериальных препаратов и определенную тенденцию к улучшению результатов лечения, процент инвалидизации таких больных не уменьшается.

Большая распространенность пиелонефрита в детском возрасте, преобладание малосимптомных форм заболевания, склонность его к прогрессированию и часто недостаточная эффективность существующих методов лечения представляет серьезную медико-социальную проблему и настоятельно требуют более углубленного изучения патогенетических механизмов данной патологии. Наряду с общеизвестными диагностическими мероприятиями в последнее десятилетие в литературе появляется все больше данных о более дифференцированных, патогенетически оправданных методах определения активности, локализации и исхода воспалительного процесса в ОМС. Это, в свою очередь, позволит оптимизировать современные методы диагностики и терапевтической тактики для совершенствования профилактики хронизации воспалительного процесса и грубых морфологических нарушений в почечной паренхиме.

В патогенезе и исходе хронических инфекционных заболеваний не вызывает сомнений важная роль иммунной системы [4,5,6]. В последние годы исследователей все больше интересует изучение цитокинового статуса, поскольку цитокины, будучи медиаторами иммунитета, способны менять характер течения воспалительного процесса в ту или иную сторону, обеспечивать адекватный ответ на внедрение патогена [1,3,11,12,13,15]. Для клиницистов важна именно патогенетическая роль цитокинов в развитии нефропатий у детей. Многие иностранные авторы указывают на роль цитокинов в развитии склерозирования интерстиция почек при хроническом течении и предлагают использовать показатели уровней отдельных цитокинов как мониторинг состояния почечной ткани и иммунной системы в целом. Это ставит разработку системы неинвазивного иммунологического мониторинга и иммунологических критериев эффективности лечения хронического пиелонефрита в ряд актуальных проблем педиатрической нефрологии.

Анализ механизмов, лежащих в основе инфекционно-воспалительных заболеваний ОМС, сформировал современное отношение к пиелонефриту как варианту эндогенной инфекции. Установлено, что в большинстве случаев данного заболевания у детей основным источником инфицирования почек выступает кишечный микробиоценоз, а дисбактериоз кишечника является важным фактором риска развития пиелонефрита [8]. Это обстоятельство определяет необходимость коррекции нарушений кишечного микробиоценоза у детей с ренальной инфекцией, что должно найти отражение в

современных протоколах лечения данной патологии. До настоящего времени не нашло широкого применения использование биопрепаратов в терапии и профилактике рецидивов хронического пиелонефрита у детей.

Лечебные мероприятия при ИМС направлены на ликвидацию микробно-воспалительного процесса в почках и мочевыводящих путях, нормализацию уродинамики, стимуляцию регенераторных процессов, повышение иммунологической реактивности организма ребенка, способствующие предупреждению рецидивов и осложнений, нефросклероза. Терапевтические протоколы включают режим, диету, дезинтоксикационную терапию, применение антибактериальных препаратов, иммуномодуляторов и иммунокорректоров, различные схемы противорецидивной терапии. Принципами антибактериальной терапии пиелонефрита (ИМП) являются активность антибактериальных препаратов в отношении причинно-значимого микроорганизма, способность достигать высокой концентрации в паренхиме почки и тубулярном аппарате, способность элиминироваться через мочевые пути в активной форме, отсутствие выраженной нефротоксичности [10].

Результат лечения зависит от класса применяемых антибиотиков, дозы, длительности лечения, бактериальной резистентности. К сожалению, лечение пиелонефрита успешно далеко не у всех больных. Современные антимикробные средства, используемые для лечения инфекционно-воспалительной патологии органов мочевой системы, обладают выраженными побочными эффектами: вызывают эндотоксемию, индуцируют в организме состояние иммунодефицита вследствие иммуносупрессивной активности, провоцируют анафилактические реакции, развитие дисбактериоза и кандидоза слизистых. Многие антибиотики обладают нефро-, гепато- и ототоксичностью. Большую проблему составляет нарастание резистентности микроорганизмов к применяемым антибактериальным средствам, а также смена структуры уропатогенов в этиологии заболевания

При проведении антибиотикотерапии достаточно часто встречаются побочные явления и преимущественно со стороны желудочно-кишечного тракта: диарея, запор, тошнота, нарушение вкусовых ощущений, стоматит и вздутие кишечника. Побочные эффекты снижают переносимость лечения. Кишечная среда характеризуется значительным скоплением бактерий, до  $10^{12}$ - $10^{14}$  КОЭ/мл в толстой кишке. Эти бактерии сосуществуют в определенном равновесии с клетками слизистой оболочки кишечника. Антибактериальная терапия вызывает нарушение этого равновесия и приводит к доминированию условно патогенной флоры над нормальной облигатной микрофлорой. Изменение состава микрофлоры кишечника может быть спровоцировано любым антибиотиком. В лечении пиелонефритов наиболее часто используются цефалоспорины 2-3 поколений и защищенные пенициллины. При выявлении хламидийной инфекции

обязательно включение в схему лечения этиотропных средств с антихламидийной активностью - тетрациклинов, макролидов, способных усиливать сократимость гладкой мускулатуры желудочно-кишечного тракта, что может приводить к усилению моторики кишечника, повышению скорости транзита кишечного содержимого и диарее [2]. Дисфункция желудочно-кишечного тракта способствует инфицированию мочевых путей через лимфатическую систему от легких (транзиторная бактериурия) до выраженных клинических форм поражения мочевой системы. Все выше изложенное является достаточным основанием для включения в схему терапии ИМС препаратов с пробиотической активностью.

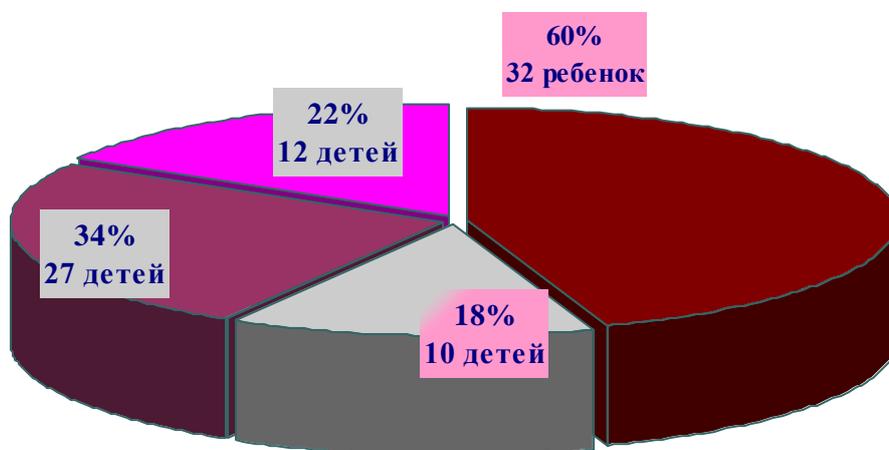
Таким образом, в связи с полученными нами результатами исследования клинико-лабораторных особенностей пиелонефрита у детей на современном этапе, значительной распространенностью пиелонефрита, нередко с хроническим упорным течением, частыми рецидивами, множественными побочными реакциями на антибактериальные препараты, развитием резистентности микроорганизмов к антибиотикам, инвалидизацией в молодом возрасте в результате хронической почечной недостаточности, изучение роли некоторых иммунных механизмов патогенеза хронического пиелонефрита, проблема поиска новых патогенетически обоснованных и эффективных безопасных средств и схем лечения и профилактики рецидивов пиелонефрита приобретают особую актуальность [16,17]..

Цель работы: Предложить эффективные схемы лечения пиелонефрита и профилактики рецидивов с использованием препаратов Энтерожермина и Циклоферон на основании исследования клинико-этиопатогенетических и иммунологических особенностей пиелонефрита и рецидивирующих ИМС на современном этапе.

Задачи исследования:

1. Исследовать роль провоспалительных цитокинов в крови и моче в патогенезе хронического пиелонефрита и рецидивирующих ИМВП у детей.
2. Изучить клинический эффект препарата Энтерожермина в отношении снижения риска побочных эффектов антибактериальной терапии активных форм пиелонефрита.
3. Исследовать влияние препарата Энтерожермина на динамику цитокиновой архитектоники при острых и обострении хронических пиелонефритов.
4. Изучить влияние Циклоферона на клинику и лабораторные показатели при рецидивирующих формах ИМС у детей.
5. Разработать схему противорецидивного лечения пиелонефрита и ИМС препаратом Циклоферон и оценить ее эффективность.

Материалы и методы. Обследовано 54 больных с манифестными формами ИМС: из них 32 пациента (60%) - с острым, впервые дебютировавшим пиелонефритом, 10(18%) – с обострением хронического пиелонефрита, 12(22%)- рецидивирующими ИМВП, а также 27 детей с латентной формой хронического пиелонефрита (рис.1).



- Острый пиелонефрит
- Хронический пиелонефрит, обострение
- Хронический пиелонефрит, латентное течение
- ИМВП

Рис.1

Распределение по полу было следующим: 65(88%) девочки и 16(12%) мальчика. Преобладали дети дошкольного и школьного возраста, средний возраст пациентов составил  $9,47 \pm 0,65$  лет (рис.2).



- Девочки
- Мальчики

Рис.2

Критерии включения пациентов в исследование

- информированное согласие родителей больного ребенка на участие в исследовании;

-наличие клинически и лабораторно подтвержденной ИМС в различные фазы активности воспалительного процесса.

Диагноз острого пиелонефрита ставился на основании следующих диагностических критериев: 1) синдрома интоксикации (лихорадка, головная боль, утомляемость); 2) болевого синдрома (боли в животе, поясничной области, по ходу мочеточников); 3) мочевого синдрома (протеинурия от следовой до 1-1,5 г/л, нейтрофильная лейкоцитурия, бактериурия в диагностически значимых титрах, снижении относительной плотности мочи), изменения в анализах крови (ускорение СОЭ, лейкоцитоз со сдвигом влево, СРБ).

Хронический пиелонефрит констатировался при сохранении признаков заболевания более 6 месяцев или наличия за этот период двух и более рецидивов и подтверждался СНСГ [5,7]..

Критериями отнесения пациентов в группу ИМВП были следующие: 1) мочевого синдром: - нарушение прозрачности мочи за счет наличия бактерий, лейкоцитов, слущенного эпителия; - нейтрофильная лейкоцитурия; - увеличенное количество клеток плоского эпителия; - бактериурия в диагностически значимом титре; - незначительная протеинурия, менее 0,1 г/л; 2) отсутствие симптомов интоксикации; 3) отсутствие нарушения общего состояния; 4) возможно: - учащенное, болезненное мочеиспускание; - пальпаторная болезненность области мочевого пузыря; - императивные позывы [7,9].

Критерии исключения пациентов из исследования:

- отказ родителей от участия в исследовании;
- наличие тяжелых соматических заболеваний в стадии декомпенсации патологического процесса, способных повлиять на иммунологический статус организма;
- наличие вирусных или бактериальных инфекций;
- применение иммуноактивных лекарственных препаратов в последние 30 дней до начала исследования;

Длительность заболевания у больных острым пиелонефритом была от 1 до 14 дней, в среднем  $3 \pm 0,5$  дней, хроническим пиелонефритом от 2 до 15 лет, составив в среднем  $9 \pm 0,76$  лет. Отягощенная наследственность по заболеваниям органов мочевой системы у наблюдаемых больных была выявлена в 18,5% случаев, преимущественно по материнской линии, у близких родственников заболеваемость органов мочевой системы составила 4,6 % случаев.

Среди наблюдаемых нами детей диарея отмечалась у 4 (18%), запоры у 12(54.5%), метеоризм у 6(27%), налеты на языке у 14(63.5%), плохой аппетит у 7(32%), тошнота у 2(9%), рвота у 1(4.5%) пациентов.

Исходя из формулировки клинического диагноза и поставленных задач, все больные с острыми формами пиелонефрита были разделены на две группы: 1-ую (основную) составили дети, получающие наряду с базисной антибактериальной терапией официальный препарат «Энтерожермина» с первого дня лечения в стационаре, 2-ую (сравнения)– дети, получающие только базисную терапию. Больные с хроническими рецидивирующими формами заболевания были также разделены на 2 группы: 3-ю группу (основную) составили дети, получающие наряду с базисной терапией официальный препарат «Циклоферон» с первого дня лечения в стационаре, 4-ую (сравнения)– дети, получающие только базисную терапию. Группы сопоставимы по полу, возрасту, активности заболевания, получаемой базисной антибиотикотерапии. Динамику клинических симптомов оценивали ежедневно и регистрировали на 3,6 и 9 дни терапии, лабораторные показатели – на момент поступления, через 5-7 и 14, 21 день. Программа исследования цитокинового статуса включала определение уровней ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови и супернатанте утренней порции мочи на 1 – 2-й день поступления в стационар больных с острым, обострением хронического пиелонефрита, латентнопротекающим хроническим пиелонефритом и рецидивирующими ИМВП и в динамике на 10 день обследования.

«Циклоферон» является низкомолекулярным индуктором интерферона, что определяет широкий спектр его биологической активности (противовирусной, иммуномодулирующей, противовоспалительной и др.)

Основными клетками-продуцентами интерферона после введения Циклоферона являются макрофаги, Т-и В-лимфоциты. В зависимости от типа инфекции имеет место преобладание активности того или иного звена иммунитета. Препарат индуцирует высокие титры интерферона в органах и тканях, содержащих лимфоидные элементы (селезенка, печень, легкие), активирует стволовые клетки костного мозга, стимулируя образование гранулоцитов. Циклоферон активирует Т-лимфоциты и естественные киллерные клетки, нормализует баланс между субпопуляциями Т-хелперов и Т-супрессоров. Установлена высокая эффективность препарата в комплексной терапии острых и хронических бактериальных инфекций.

Одним из препаратов, используемых для профилактики развития побочных эффектов при проведении антибактериальной терапии является Enterogermina (производства Sanofi-Synthelabo, Милан, Италия). Применение *Bacillus clausii* в качестве пробиотического микроорганизма основано на более чем 40-летнем опыте клинического применения в Италии, при этом отмечалась его отличная переносимость и отсутствие побочных эффектов. Более того, он обладает некоторыми уникальными свойствами: является

резистентным к наиболее часто назначаемым антибиотикам, не входит в состав нормальной облигатной микрофлоры кишечника и обладает спорогенной активностью, что позволяет выжить в кислой среде желудка, активизироваться и достичь кишечника.

Эффект применения препарата Enterogermina в комплексной терапии ИМП в детском возрасте не исследован.

Результаты.

Анализируя результаты проведенного лечения, у всех пациентов учитывали динамику клинических симптомов, а также переносимость препарата и отсутствие побочных эффектов. Исследование кала на предмет состава бактериальной микрофлоры нами не проводилось. Однако проведенные ранее исследования по изучению состава микрофлоры кала подтвердили присутствие *Bacillus clausii* в кале после перорального приема препаратов и доказали антибиотикорезистентность *Bacillus clausii*. У 100% пациентов с запорами стул нормализовался на 2 сутки приема препарата. У пациентов с диареей частота стула нормализовалась на 2-3 сутки, явления метеоризма исчезали также на 2-3 сутки. Отсутствие тошноты, рвоты и нормализация аппетита наблюдалось на 1-3 сутки, что в свою очередь можно объяснить исчезновением интоксикации на фоне этиотропной и дезинтоксикационной терапии.

Найдены прямые корреляции концентрации цитокинов с количеством рецидивов после лечения, что позволяет использовать этот метод для прогнозирования рецидивов в будущем. В частности, концентрация ИЛ-4, ИЛ-8 и ФНО в крови коррелирует с количеством рецидивов после лечения в группе хронических пиелонефритов ( $p < 0,05$ ); найдена прямая корреляция между содержанием ИЛ-6 и ИЛ-8 в крови и кол-вом обострений после лечения в группе рецидивирующих ИМВП ( $p < 0,05$ ).

Мы проанализировали влияние препарата циклоферон (1-я группа) на количество рецидивов и сравнили с количеством рецидивов в группе, получающей стандартную терапию (2-я группа). Количество обострений в 1-й группе достоверно уменьшилось после лечения ( $p < 0,05$ ), рецидив возник только у 2 пациентов, среднее время ремиссии составило 7 месяцев.

Во 2-й группе рецидивы возникли у 9 пациентов из 30 и среднее время ремиссии составило 6, 1 мес. Средняя концентрация интерлейкинов после лечения в группе пациентов, получающих циклоферон, ниже, чем в группе, не получающей таковое лечение, хотя достоверность найдена только ИЛ-2,8. (табл.1)

Средняя концентрация цитокинов после лечения в сравниваемых группах

Табл.1

Цито- кины		«Циклоферон» (пг/мл)	Без препарата «Циклоферон» (пг/мл)
2	кровь	23,9	54 p<0,05
	моча	38	37
4	кровь	23	20
	моча	9	9
6	кровь	21	27
	моча	7	7
8	кровь	93	141 p<0,05
	моча	84	86
ФНО	кровь	14	5
	моча	12	6

Мы изучили динамику концентрации цитокинов у пациентов, получавших препарат «Энтерожермина» и сравнили ее с содержанием интерлейкинов в группе пациентов получающих стандартную терапию (табл.2).

Средняя концентрация цитокинов после лечения в сравниваемых группах

Табл.2

Цито- кины		« Энтерожермина» (пг/мл)	Без препарата «Энтерожермина» (пг/мл)
2	кровь	20	31 p<0,08
	моча	12	37 p<0,001
4	кровь	9	22 p<0,00004
	моча	0,7	5,6 p<0,02
6	кровь	17	32 p<0,01
	моча	1,9	6,1 p<0,04
8	кровь	194	173
	моча	24,5	73 p<0,009

ФНО	кровь	0,5	7,98	p<0,0001
	моча	0	6,3	p<0,03

Проанализировали группу пациентов с манифестными формами ИМС. 5 пациентов, в комплексную терапию которых входил препарат Энтерожермина, имели до лечения 11 обострений, а после лечения только 3 человека по 1 обострению. Среднее время ремиссии составило 4 месяца.

Анализ пациентов, не получавших препарат, показал, что до лечения имели обострения 6 человек (18 обострений), после лечения обострение возникло у 7 (15) в среднем уже через полтора месяца.

#### Выводы.

1. Определение провоспалительных интерлейкинов – 2, 4, 6, 8 и ФНО- $\alpha$  в моче является неинвазивным методом, адекватно отражающим их уровень в сыворотке крови, позволяющим оценивать динамику воспалительного процесса, адекватность проводимого лечения и необходимость продолжения уросептической терапии после выписки из стационара.
2. Средняя концентрация провоспалительных интерлейкинов в крови и в моче во всех группах после лечения с использованием препарата Энторожермина достоверно ниже, чем в сравниваемой группе ( $p<0,05$ ). Enterogermina влияет на частоту обострений, следовательно может быть рекомендована к применению в комплексном лечении острых и обострений хронических пиелонефритов в детском возрасте.
3. Нормализация микробиоциноза кишечника, особенно у детей первого года жизни, позволяет избежать рецидивов ИМС, поскольку устраняет дисфункции желудочно-кишечного тракта (диареи, запоры, дизбактериоз, активизацию условно-патогенной флоры кишечника). При использовании препарата Enterogermina не отмечено аллергических реакций и других побочных эффектов.
4. Назначение Циклоферона при рецидивирующих ИМС на амбулаторном этапе в течение месяца после комплексной терапии пиелонефрита сокращает число рецидивов заболевания ( $p<0,05$ ). Предложенная схема противорецидивного лечения выявила достоверное снижение провоспалительных цитокинов по сравнению с традиционной терапии уросептиками, поэтому может использоваться для профилактики рецидивов

пиелонефрита, при этом ее преимуществом является отсутствие побочных эффектов и возможность применения, начиная с грудного возраста.

### Литература.

1. Баранов А.А., Сенцова Т.Б., Яцык С.П. Показатели ИЛ-1В и ИЛ-2 у детей с хроническим обструктивным пиелонефритом. Рос. пед. журн.; 2004 (1): 57-59.
2. Запруднов А.М. Хламидиоз у детей / А.М. Запруднов, Л.Н. Мазанкова, К.И. Григорьев.-М.:ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 2000.-60с.
3. Козлов В.А. Некоторые аспекты проблемы цитокинов. Цитокины и воспаление 2002; 1; №1: 5-8.
4. Лебедев К.А., Понякина. Иммунная недостаточность. М., 2003,440 с.
5. Мазо Е.Б., Винницкий Л.И., Элбейк Т. Хронический пиелонефрит: особенности иммунопатогенеза и их клинико-диагностическая значимость. Терапевт. архив. 2007; 85-89.
6. Малашицкий Д. А. Состояние клеточного и гуморального иммунитета при остром пиелонефрите. Здоровоохранение 10/2005: 51-52.
7. Папаян А.В., Савенкова Н.Д. Клиническая нефрология детского возраста.-СПб, Сотис,1997.-712с.
8. Румянцев А.Ш., Гончарова Н.С. Этиология и патогенез пиелонефрита. Нефрология 2000; 4(3): 40-52.
9. Станкевич З.А. и др. Мочевой синдром в детском возрасте и его клиническая оценка: учеб.-метод.пособие /.-Минск:БГМУ,2009.-30с.
10. Царегородцев А.Д., Таболин В.А. Руководство по фармакотерапии в педиатрии и детской хирургии «Нефрология». - М., Медпрактика-М.,2003.-436с.
11. Biron C. A., Nguyen K. B., Pien G. C. Innate immune responses to LCMV infections: natural killer cells and cytokines. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2002; 263:7-27.
12. Frendeus B., Godaly G., Hang L. et al. Interleukin 8 receptor deficiency confers susceptibility to acute experimental pyelonephritis and may have a human counterpart. J. Exp. Med. 2000; 192 (6): 881-890.
13. Hertting O., Khalil A., Jaremko G. Et al. Enhanced chemokine response in experimental acute Escherichia coli pyelonephritis in IL-1beta-deficient mice. Clin. Exp. Immunol. 2003; 131 (2): 225-233.
14. Horcajada J. P., Velasco M., Filella X. et al. 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.
15. Olszyna D. P., Opal S. M., Prins J. M. Et al. Chemotactic activity of CXC chemokines interleukin-8, growth-related oncogene-alpha, and epithelial cell-derived neutrophil-activating protein-78 in urine of patients with urosepsis. J. Infect. Dis. 2000; 182 (6): 1731-1737.
16. Sun J. S., Xu Y. Q., Meng H. Clinical immunological study on prevention and treatment of chronic pyelonephritis with yishenkang granule. Zhongguo Zhong Xi Yi Oshu He Za Zhi 2002; 22 (5): 337-340.
17. Williams D. H., Schaeffer A. J. Current concepts in urinary tract infections. Pediatr. Res. 2003; 54(4): 536-544.

Осипович Светлана Александровна – ассистент 1-й кафедры детских болезней БГМУ,  
тел. +375 29 385 69 00.

Сукало Александр Васильевич – д.м.н., профессор, член-корр. НАН Беларуси,  
заслуженный деятель науки РБ, зав. 1-й кафедры детских болезней БГМУ.