

## ДИНАМИКА ЦИТОКИНОВ КРОВИ И МОЧИ В ПЕРИОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ У ДЕТЕЙ С ПУЗЫРНО-МОЧЕТОЧНИКОВЫМ РЕФЛЮКСОМ

*П. В. Глыбочко, А. А. Свистунов, Д. А. Морозов, О. Л. Морозова, Б. В. Долгов, Ф. К. Напольников, А. В. Фисун, А. В. Максимова*

*Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского*

В статье приведены результаты исследования цитокинов [интерлейкина (ИЛ)-1бета, 6, 8, фактора некроза опухоли-альфа, 4, 10] сыворотки крови и мочи у 40 детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом в периоперационном периоде. Обнаружено, что даже в латентную фазу хронического обструктивного пиелонефрита имеются выраженные изменения цитокинового профиля в моче. Показано, что наибольшее диагностическое значение имеет изменение содержания провоспалительных ИЛ-8 и -6, у которых имеется сильная положительная корреляция с тяжестью течения воспалительного процесса в мочевыводящих путях. Мы предполагаем, что исследование цитокинового профиля мочи позволяет неинвазивным методом оценивать тяжесть течения воспалительного процесса в мочевыводящих путях, эффективность проводимой консервативной терапии, а также корректировать сроки проведения оперативных вмешательств, что особенно важно у детей раннего возраста.

*Ключевые слова:* цитокины, пузырно-мочеточниковый рефлюкс, дети.

## BLOOD AND URINE CYTOKINES DYNAMICS IN PERIOPERATIVE PERIOD IN CHILDREN WITH VESICoureTERAL REFLUX

*P. V. Glybochko, A. A. Svistunov, D. A. Morozov, O. L. Morozova, B. V. Dolgov, F. K. Napolnikov, A. V. Fisun, A. V. Maksimova*

Results of blood and urine cytokines (IL-1beta, 6, 8, the FNO-alpha, 4,10) study in 40 children with vesicoureteral reflux in perioperative period are described in this article. It is revealed that even in the latent phase of chronic obstructive pyelonephritis there are expressed changes of cytokines profile in urine. It is shown that a change in the level of proinflammatory IL 8 and 6 is of the greatest prognostic value, which has a strong positive correlation with severity of inflammatory process in urinary tracts. We assume that a study of urine cytokines profile provides a noninvasive method for estimation of the severity of inflammatory process in urinary tracts, efficiency of administered conservative therapy, as well as a correction in the terms of carrying out operative interventions, which is especially important in young children.

*Key words:* cytokines, vesicoureteral reflux, children.

Несмотря на значимые успехи в пренатальной и ранней диагностике обструктивных уропатий, внедрение новых высокотехнологичных методов их эндоскопической коррекции, до настоящего времени остаются нерешенными вопросы инициации воспалительного процесса и фибросклероза почечной паренхимы на фоне данной патологии [4, 6]. Перед клиницистами постоянно встает вопрос, почему при одном и том же виде пузырно-мочеточникового рефлюкса (ПМР) у одних детей функция почек после коррекции довольно быстро восстанавливается, а у других продолжает прогрессивно снижаться вплоть до развития хронической почечной недостаточности [1, 9]. В настоящее время интерес исследователей все больше вызывают цитокины, играющие важную роль в развитии системных функциональных и метаболических расстройств при хроническом обструктивном пиелонефрите у детей [7, 10]. В то же время в уро-нефрологической практике не получил широкого распространения мониторинг уровня цитокинов в динамике течения заболевания в целях оценки эффективности комплексной терапии и прогнозирования течения патологии [5, 8]. Недостаточно изучена степень

участия различных цитокинов в развитии и прогрессировании поражения почек при ПМР у детей.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить роль цитокинов [интерлейкина (ИЛ)-1бета, -6, -8, фактора некроза опухоли (ФНО)-альфа, 4, 10] сыворотки крови и мочи в развитии и прогрессировании локального воспалительного процесса в мочевыводящих путях у детей с ПМР в динамике заболевания.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 40 детей с обструктивными уропатиями, у которых коррекция ПМР проводилась эндоскопически. Двусторонний ПМР диагностирован у 9 пациентов (25 %). Эндоскопическая коррекция путем эндоимплантации биостабильного препарата ДАМ+ выполнена у 28 больных с ПМР (70 %) и биодеградируемого препарата коллаген — у 12 больных с ПМР. В зависимости от фазы хронического обструктивного пиелонефрита (ХОП) все больные были разделены на две группы: с латентным течением воспалительного процесса — 28 пациентов (группа 1), с

активным течением ХОП — 12 детей (группа 2). Группу контроля составили 20 детей с малой хирургической патологией (пупочной или паховой грыжей) в предоперационном периоде, стратифицированных по возрасту и полу.

Всем пациентам исследуемой группы и группы сравнения было выполнено количественное определение цитокинов (ИЛ-1, -6, -8, ФНО-альфа, -4, -10) в образцах сыворотки крови и мочи методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью тест-систем «Bender Medsystems» (Австрия) и «Вектор-Бест» (Россия, Новосибирск) в динамике заболевания на иммуноферментном анализаторе «Stat Fax 2010» (Stat Fax, США). Забор крови и мочи для анализа проводился при поступлении с целью оценки исходного уровня активности воспалительного процесса, а также на 3—5-й день после оперативного вмешательства. Образцы крови и мочи центрифугировались при 5000 об./мин, в течение 15 минут. Полученная сыворотка крови или надосадочная жидкость хранились при -20 °С до проведения анализа. Статистический анализ результатов обследования и лечения пациентов проведен с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 for Windows корпорации StatSoft-Russia (1999)

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов исследования показал, что в группе 1 больных ПМР в фазу ремиссии пиелонефрита ( $n = 28$ ) в сыворотке крови наблюдалось снижение уровня ИЛ-1бета до операции при одновременном возрастании провоспалительных уровней ИЛ-6 и ИЛ-8 (табл. 1). Данный факт находит объяснение в том, что ИЛ-1бета и ИЛ-6 находятся во взаимоконтролируемых отношениях, и при повышении одного (ИЛ-6) возможно подавление синтеза другого (ИЛ-1бета) [2, 3]. Содержание ИЛ-8 в сыворотке крови оставалось повышенным и в послеоперационном периоде, что свидетельствует о значимой роли данного цитокина в механизмах инициации воспалительной реакции. Другие провоспалительные цитокины (ИЛ-1бета, -6) после операции достоверно не отличались от показателей контрольной группы. Достоверных изменений уровней ФНО-альфа в сыворотке крови не регистрировалось на протяжении всего периода исследования. Кроме того, на фоне изменения провоспалительных цитокинов было выявлено повышение уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-10 в сыворотке крови в предоперационном периоде. На 3—5-е сутки после операции его содержание возвращалось к исходному уровню.

В моче отмечено повышение содержания провоспалительных цитокинов ИЛ-8 и ФНО-альфа на протяжении всего периода наблюдения (табл. 1). Уровень ИЛ-6 в моче повышался в послеоперационном периоде. А содержание противовоспалительного ИЛ-10 сни-

жалось на 3—5-е сутки после операции по сравнению с показателями в предоперационном периоде. Достоверных изменений уровней ИЛ-1бета и ИЛ-4 не регистрировалось на протяжении всего периода исследования. Таким образом, наиболее выраженными для пациентов группы 1 были характерны следующие изменения: повышение содержания провоспалительных ИЛ-6, -8 в сыворотке крови с одновременным однонаправленным изменением противовоспалительного ИЛ-10; значительное увеличение содержания ИЛ-8 в моче на протяжении всего периода наблюдения на фоне снижения уровня противовоспалительного ИЛ-10 на 3—5-е сутки после операции.

Таблица 1

### Динамика цитокинового профиля больных с ПМР и латентным течением ХОП

Показатель, пг/мл	Группа контроля ( $n = 20$ )		Группа 1 больных ПМР с латентным течением ХОП ( $n = 28$ )						
			до операции			3—5-е сутки после операции			
	M	SD	M	SD	p-level	M	SD	p-level	p*-level
Кровь									
ИЛ-1β	3,58	3,07	1,64	2,35	0,001	1,93	2,10	0,007	0,215
ИЛ-6	1,65	2,17	4,34	13,21	0,02	2,54	12,45	0,145	0,471
ИЛ-8	10,75	14,40	50,35	47,89	0,0001	44,80	40,06	0,0001	0,506
ФНО-α	2,89	3,12	3,12	4,22	0,191	3,17	5,39	0,204	0,263
ИЛ-4	1,81	0,81	1,76	2,07	0,07	2,00	18,67	0,390	0,118
ИЛ-10	3,64	2,72	8,55	22,88	0,006	6,16	20,66	0,098	0,317
Моча									
ИЛ-1β	3,74	4,46	2,48	10,76	0,82	2,87	7,58	0,502	0,945
ИЛ-6	2,37	1,95	2,40	5,59	0,65	15,76	36,74	0,0001	0,658
ИЛ-8	6,05	3,64	24,25	49,09	0,0003	78,60	93,86	0,0001	0,0001
ФНО-α	2,33	1,90	5,97	9,67	0,01	4,67	17,75	0,002	0,50
ИЛ-4	1,63	1,99	1,89	3,76	0,217	1,74	4,48	0,089	0,471
ИЛ-10	2,45	5,32	5,84	4,79	0,627	3,66	2,67	0,794	0,006

Примечание. Здесь и далее. M — медиана; SD — среднее квадратичное стандартное отклонение, указывающее на разброс данных по интервалу значения признака относительно медианы; p-level — уровень достоверности различий по отношению к показателям контрольной группы; p\*-level — уровень достоверности различий по отношению к показателям до операции.

Во группе 2 больных ПМР и обострением ХОП ( $n = 12$ ) в сыворотке крови наблюдалось возрастание уровня провоспалительного ИЛ-6 и одновременное однонаправленное увеличение концентрации противовоспалительного ИЛ-10, которые в послеоперационном периоде не отличались от показателей контрольной группы (табл. 2). Кроме того, на 3—5-е сутки после операции отмечалось повышение уровня ИЛ-1 бета. Содержание ИЛ-8 оставалось повышенным на протяжении всего периода наблюдения. Достоверного изменения содержания ФНО-альфа и ИЛ-4 не выявлено. В моче на протяжении всего периода наблюдения отмечалось увеличение всех провоспалительных цитокинов в предоперационном периоде, тогда как на 3—5-е сутки после операции сохранялись повышенными уровни только ИЛ-6 и ИЛ-8 (табл. 2). Среди противовоспалительных цитокинов мочи ИЛ-4 и ИЛ-10 достоверных колебаний

их концентрации на протяжении всего периода наблюдения не выявлено.

Таким образом, для больных ПМР и обострением ХОП было характерно: повышение уровня провоспалительных цитокинов (ИЛ-6, -8) в сыворотке крови при одновременном однонаправленном нарастании содержания противовоспалительного ИЛ-10 в предоперационном периоде; увеличение содержания всех провоспалительных цитокинов в моче, при этом уровень противовоспалительных цитокинов был неизменным на протяжении всего периода наблюдения.

Таблица 2

### Изменения цитокинового профиля у больных с ПМР и активным течением ХОП

Показатель, пг/мл	Группа контроля (n = 20)		Группа 2 больных ПМР и активным течением ХОП (n = 12)							
			до операции				3–5-е сутки после операции			
	M	SD	M	SD	p-level	M	SD	p-level	p*-level	
Кровь										
ИЛ-1β	3,58	3,07	2,74	25,96	0,94	1,93	149,27	0,007	0,22	
ИЛ-6	1,65	2,17	3,52	10,38	0,05	4,22	98,78	0,15	0,47	
ИЛ-8	10,75	14,40	40,95	223,97	0,07	29,65	214,73	0,0001	0,51	
ФНО-α	2,89	3,12	1,58	22,32	0,19	2,46	100,43	0,204	0,26	
ИЛ-4	1,81	0,81	1,86	1,37	0,08	2,22	2,73	0,39	0,08	
ИЛ-10	3,64	2,72	9,13	5,79	0,02	7,76	10,62	0,09	0,32	
Моча										
ИЛ-1β	3,74	4,46	11,04	16,75	0,05	7,15	33,19	0,39	0,75	
ИЛ-6	2,37	1,95	20,63	250,33	0,005	66,94	125,69	0,003	0,87	
ИЛ-8	6,05	3,64	177,25	274,24	0,004	330,8	251,76	0,002	0,58	
ФНО-α	2,33	1,90	5,97	9,67	0,02	2,22	8,00	0,88	0,69	
ИЛ-4	1,63	1,99	1,89	3,76	0,21	3,92	3,35	0,24	0,88	
ИЛ-10	2,45	5,32	3,51	10,32	0,75	2,96	19,77	0,94	0,75	

При сравнении показателей в двух группах было обнаружено, что во группе 2 больных с ПМР и ХОП в фазу обострения в сыворотке крови отмечены более высокие концентрации ИЛ-1β в предоперационном периоде ( $p < 0,005$ ), в моче зарегистрировано достоверное преобладание провоспалительных цитокинов в предоперационном периоде (ИЛ-6  $p < 0,003$ ; ИЛ-8  $p < 0,01$ , ФНО-альфа  $p < 0,04$ ), тогда как уровень противовоспалительных цитокинов достоверно не отличался. На 3–5-е сутки у больных группы 2 сохранялся повышенный по сравнению с пациентами группы 1 только уровень ИЛ-8 ( $p < 0,04$ ) в моче.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Определение уровня цитокинов в моче позволяет неинвазивно оценить тяжесть течения хронического обструктивного пиелонефрита у детей с ПМР, эффективность проводимой консервативной терапии, установить оптимальные сроки оперативного вмешательства.

2. Наибольшее диагностическое значение имеет уровень ИЛ-8, изменение которого коррелирует с тяжестью течения воспалительного процесса в мочевыводящих путях.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Леонова Л. В. Патологическая анатомия врожденных обструктивных уropатий у детей: Автореф. дис. ... д. м. наук. — М., 2009. — 54 с.
2. Серебренникова С. Н., Семинский И. Ж. // Сибирский медицинский журнал. — 2008. — № 8. — С. 5—8.
3. Фрейдлин И. С. // Иммунология. — 2001. — № 5. — С. 4—7.
4. Хворостов И. Н., Зоркин С. Н., Смирнов И. Е. // Вестник ВолГМУ. — 2005. — № 2 (14). — С. 45—49.
5. Язык С. П., Сенцова Т. Б., Фомини Д. К., Шарков С. М. Патогенез хронического обструктивного пиелонефрита у детей и подростков. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. — 176 с.
6. Abreu J. G., Ketpura N. I., Reversade B., et al. // Nat. Cell. Biol. — 2002. — Vol. 4, № 8. — P. 239—243.
7. Eddy A. A. // Pediatr Nephrol. — 2000. — Vol. 15 (3—4). — P. 290—301.
8. Hellerstein S. // Infect Med. — 2002. — Vol. 19. — P. 554—560.
9. Kawate, Kamura R., T. Uchida, et al. // Acta Hystochem. Cytochem. — 2009. — Vol. 42 (3). — P. 65—71.
10. Picard N., Baum O., Vogetseder A., et al. // Histochem Cell Biol. 2008. — Vol. 130. — P. 141—155.

### Контактная информация:

**Морозова Ольга Леонидовна** — к. м. н., доцент кафедры патофизиологии, старший научный сотрудник НИИ уронефрологии Саратовского государственного медицинского университета, e-mail: morozova\_ol@list.ru