

© Колесник М.О., Дряньська В.Є., Драннік Г.М., Гайсенюк Ф.З.,
Руденко М.Ю., Степанова Н.М., Лавренчук О.В., Савченко В.С., 2014

УДК 616.61-002.3:615.37

М.О. КОЛЕСНИК¹, В.Є. ДРЯНСЬКА¹, Г.М. ДРАННИК², Ф.З. ГАЙСЕНЮК³,
М.Ю. РУДЕНКО, Н.М. СТЕПАНОВА¹, О.В. ЛАВРЕНЧУК¹, В.С. САВЧЕНКО²

**ВПЛИВ ІМУНОКОРЕКЦІЇ НА СТАН ЦИТОКІНОВОЇ
ЛАНКИ І SLPI У ХВОРИХ НА ПІЄЛОНЕФРИТ**

*M. KOLESNYK¹, V. DRYANSKA¹, G. DRANNIK², F. GAYSENYUK³,
M. RUDENKO, N. STEPANOVA¹, O. LAVRECHUK¹, V. SAVCHENKO².*

**EFFECTS OF IMMUNOCORRECTION ON THE STATE OF CYTOKINES AND SLPI
IN PATIENTS WITH PYELONEPHRITIS**

ДУ «Інститут нефрології НАМН України»¹; ДУ «Інститут урології НАМН України»²;
НМАПО ім. П.Л. Шупика³

*SI «Institute of Nephrology of NAMS of Ukraine», SI «Institute of Urology of NAMS of Ukraine»
Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education*

Ключевые слова: пиелонефрит, провоспалительные цитокины, секреторные ингибиторы лейкопротеаз, иммунокоррекция.

Key words: pyelonephritis, proinflammatory cytokines, SLPI, immunocorrection.

Резюме. Вступление. Про- и противовоспалительные цитокины, SLPI принимают участие в реализации противоинфекционного иммунитета. Поэтому целесообразно изучение их особенностей для определения роли в иммунопатогенезе пиелонефрита и эффективности лечения.

Цель работы – определить особенности уровней цитокинов крови и SLPI как участников иммуногенеза пиелонефрита и обосновать целесообразность использования иммуномодулирующих препаратов у больных пиелонефритом.

Материалы и методы исследования. Исследовали уровни цитокинов крови и SLPI в крови и моче с помощью иммуноферментного метода ELISA и соответствующих тест-систем.

Результаты. У пациентов с ОПН/обострением ХПН показаны особенности цитокинов как составляющих его иммуногенеза. Сочетание антибактериальной терапии с Нуклеинатом и Галавитом приводит к позитивным изменениям цитокин-продуцирующей способности иммунокомпетентных клеток и снижению уровня провоспалительных цитокинов в крови и моче, а также SLPI в моче. У детей с ПН и взрослых с диагностическим повышением титров антител (IgG) к ВПГ, ЦМВ продемонстрированы позитивные эффекты, соответственно, Канефрона и Протефлазида.

Заключение. Клинико-иммунологические эффекты иммуномодуляторов свидетельствуют о целесообразности их использования в комплексной терапии пиелонефрита с целью модуляции цитокинового звена иммунитета для повышения эффективности лечения ОПН и предупреждения ухудшения функции почек при ХПН.

Summary. Introduction. The pro- and antiinflammatory cytokines, SLPI participate in antiinfective immunity, that is why it is necessary study their peculiarities in determination of the role in the immunopathogenesis of pyelonephritis and efficiency of treatment.

The purpose of the work is to study the levels of pro- and antiinflammatory blood cytokines, SLPI as the participant of immunogenesis and to prove expediency of immunotherapy in the patients with pyelonephritis.

Materials and methods. The immuno-enzymic method ELISA and the corresponding test-systems were used to study the levels of cytokines in blood and also SLPI in blood and urine.

Results. The peculiarities of cytokines as compounds of immunogenesis are shown in the patients having acute (A) and chronic (Ch) pyelonephritis (PN). The combination of antibacterial therapy with Nukleinat and Galavit promotes the positive changes of cytokin-producing ability of immunocompetent cells and decrease in the level of proinflammation cytokines in blood and urine, SLPI in urine. In children with PN and adult patients with diagnostically elevated titres of antibodies (IgG) to Herpes simplex virus, Cytomegalovirus are shown the positive effects of Kanephron and Proteflazidum, accordingly.

Conclusion. Clinico-immunological effects of immunomodulators testify to the expediency of this usage in complex therapy with the aim to modulate the cytokine link of immunity for improvement of the effective treatment in APN and the protection against aggravation of kidney functioning in ChPN.

Колесник М.О.
director@inephrology.kiev.ua

ВСТУП. Поширеність інфекцій сечової системи (ІСС) є провідною медичною проблемою у більшості країн світу [18, 27, 39]. Серед них найбільшу увагу привертає гострий пієлонефрит (ГПН), який часто ускладнюється загрозливими станами (абсцес, сепсис) і хронічним перебігом з розви-

тком хронічної хвороби нирок (ХХН), що призводить з часом до хронічної ниркової недостатності, і це є важливою медико-соціальною проблемою [10, 25, 29].

Найбільш частою мікробіологічною причиною виникнення неускладненого пієлонефриту (ПН) вважають *E.coli* – приблизно 85% серед усіх збудників, у 12 % випадків етіологічним фактором може бути *Staph. saprophyticus*; інші ентеробактерії та ентерококи складають лише 5%; за ускладненого пієлонефриту частота виявлення *E. coli* із сечі хворих знижується до 52%, а етіологічна роль інших ентеробактерій підвищується до 28% [8]. Суттєвим фактором, що ускладнює перебіг пієлонефриту, є наявність у хворого, крім бактеріальних, супутніх вірусних інфекцій, токсоплазмозу та хламідіозу. Взагалі, в розвитку захворювань сечової системи велике значення надається латентній вірусній інфекції, особливо віруси простого герпесу (ВПГ) та цитомегаловіруси (ЦМВ), завдяки їх здатності до персистенції [9, 19]. Багато людей є носіями декількох вірусів протягом усього життя; інфікування ВПГ відбувається у ранньому дитинстві або пренатальному періоді, гостра герпетична інфекція переходить до латентної фази з періодичними рецидивами, описано розвиток гострої ниркової недостатності при герпетичній інфекції та підтверджено можливість ураження нирок вірусом герпесу [9].

Проведені вітчизняними імунологами дослідження продемонстрували відхилення від норми показників імунітету у мешканців ряду регіонів України, навіть у здорових; на цьому фоні зростає кількість хворих на запальні захворювання, в тому числі сечостатевої системи.

В імуногенезі багатьох захворювань, в тому числі запальних, важливу роль грають цитокіни, які відповідають за всі послідовні етапи розвитку адекватної відповіді на втручання патогену, забезпечення його локалізації та знищення, відновлення ушкодженої структури тканин. Вони регулюють розвиток місцевих захисних реакцій в тканинах з участю різних типів клітин крові, ендотелію, сполучної тканини та епітелію. Захист на місцевому рівні розвивається шляхом формування запальної реакції у відповідь на проникнення в тканини патогенів за участю прозапальних цитокінів, які синтезуються у вогнищі запалення, головним чином, макрофагальними клітинами, активованими компонентами клітинної стінки патогенів, а також у відповідь на пошкодження тканин [8, 25]. Вони посилюють міграцію лейкоцитів у вогнище запалення та підвищують їх функціональну активність: фагоцитоз і продукцію кисневих

радикалів, спрямовану на елімінацію патогену [23, 33].

Відомо, що на інвазію мікроорганізмів організм реагує запальною реакцією, важливою частиною якої є поліморфноядерні гранулоцити, що продукують протеази, які знищують патогени. Їх активність регулюється секреторними інгібіторами лейкоцитарних протеаз - secretory leucocyte protease inhibitor (SLPI), які експресуються на слизових та захищають от небажаного впливу тканини хазяїна. SLPI являються ендогенними антимікробними пептидами – важливими складовими захисної системи, які викликають лізіс мікроорганізмів і ефективні проти широкого спектру бактерій, грибів і вірусів. Вони експресуються на слизових різними епітеліальними клітинами, включаючи респіраторні, кишкові, амніотичні, та продукуються, головним чином, нейтрофілами, макрофагами, кератиноцитами [32, 34].

Відомо, що SLPI – 11,7 кД неглікозильований протейн, що включає 107 амінокислот [36]. В епітеліальних клітинах їх продукція підвищується під впливом LPS, ІЛ-1, ФНП, епідермального фактору росту, нейтрофільної еластази; в мієлоїдних клітинах може бути так, що LPS індукує SLPI в макрофагах, а ІЛ-1 та ФНП – ні; протизапальний ІЛ-10 здатний викликати продукцію SLPI в макрофагах, але більш повільно, ніж LPS [30]. Ці фактори можуть представляти інтерес як маркери системної активації, в тому числі для моніторингу за перебігом інфекції від впливом терапії.

Основою лікування пацієнтів з інфекціями сечової системи, в тому числі пієлонефритів, є використання антибактеріальних лікарських засобів, які не завжди ефективні [16, 31, 38]. Неefektivність терапії таких хворих пов'язана, насамперед, з розвитком резистентності етіопатогенів або наявністю L-форм бактерій [35]. До того ж, дослідники виявили аміноглікозиди, що частіше використовуються для лікування запалення в органах сечової системи, навіть в малих дозах, мають значний проапоптозний ефект, ускладнюючи процес репарації ниркової тканини та збільшення вірогідності розвитку нефросклерозу [26]. Найбільш явними побічними діями відрізнявся гентаміцин, а найменш загрозливим з позицій стимуляції апоптозу був нетроміцин [12, 20].

Використання імуностимулюючих засобів в практичній медицині визнають особливо доцільним за умов рецидивуючих бактеріальних та вірусних інфекцій [1, 17]. Використанню імунокорекції у хворих на ІСС, в тому числі пієлонефрит, присвячено чимало робіт [4, 7, 15,

22]. До її задач можна віднести стимуляцію фагоцитарної активності, нормалізацію балансу Т-клітинної ланки імунітету, стимуляцію інтерфероноутворення та синтезу неспецифічних факторів захисту та ін. Включення до комплексної терапії інтерферонів (ІФ) обумовлено тим, що персистуюча бактеріальна інфекція ушкоджує клітини уроепітелію і перешкоджає синтезу власних ІФ. В терапії ІСС використовуються препарати ІФ-альфа, серед яких показаний позитивний вплив віферону – це комплексний препарат ІФ-альфа 2, токоферола ацетату і аскорбінової кислоти [5]. Мікробіологами Узбекистану розроблений препарат Імуномодулін, який з успіхом використовувався для лікування пієлонефриту у жінок [7].

В останні роки розроблена нова група препаратів – екстрактів клітинної мембрани бактеріальних клітин – найбільш значущих штамів, що викликають запалення сечових шляхів (*E. Coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus morgani*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus faecalis*): лікопід, солкоуровак, уро-ваксом. Показано, що такі бактеріальні екстракти здатні індукувати антигенспецифічну відповідь. Препарати стимулюють функціональну активність макрофагів, продукуючих неспецифічні гуморальні фактори імунітету (ІФ, комплемент, лізоцим), а це призводить до посилення фагоцитозу, цитотоксичної активності макрофагів і Т-лімфоцитів. Препарати цієї групи дозволяють подолати ятрогенну імуносупресію, що викликана антибіотиками, підвищувати ефективність антибактеріальних і протівірусних препаратів [15]. Аналіз даних літератури свідчить про те, що у хворих на пієлонефрит при використанні імунотропних препаратів відбуваються зміни у системі клітинного та гуморального імунітету, які корелюють із позитивним клінічним ефектом.

Таким чином, імунологи мають позитивний досвід використання імуномодуляторів, хоча даних щодо механізмів їх позитивної дії, в тому числі на цитокінову ланку імунітету недостатньо [3, 17, 24].

Серед лікарських засобів нас зацікавив препарат Нуклеїнат, який, за даними розробників, стимулює лейкопоез у кістковому мозку, нормалізує клітинний імунітет, підвищуючи фагоцитарну активність макрофагів, посилюючи активність факторів неспецифічної резистентності; позитивний клінічний ефект його використання показаний при пневмоніях, бронхіальній астмі, колітах та ін. [2].

Дослідженнями останніх років продемонстровані позитивні клінічні ефекти нового лікарського засобу Галавіт (похідне амінофталгідрозиду) при лікуванні гострих та хронічних інфекцій, сепсису, бешихи, фурункульозу, герпесу та ін. [6, 11, 21, 22], ефективність якого обумовлена його здатністю знижувати надмірну

активність моноцитів/макрофагів і продукцію ними прозапальних цитокінів, а також вільнорадикальних сполук [6]; разом з цим, Галавіт здатен відновити пригнічену фагоцитарну функцію макрофагів і нейтрофілів як важливу складову протийнфекційного захисту. Одночасно відновлюється антиген-презентуюча функція макрофагів, активуються процеси репарації ушкоджених тканин [6, 11].

У зв'язку з високою частотою вірусінфікованості хворих на ПН (ВПГ, ЦМВ та ін.) привертає увагу вітчизняний препарат рослинного походження Протефлазід. До його складу входять флавоноїдні глікозиди, що утримуються в *Deschampsia caespitosa* L. і *Calamagrostis epigeios* L., які здатні пригнічувати вірусспецифічні ферменти ДНК-полімерази та тимідинкінази у вірусінфікованих клітинах. Це призводить до зниження здатності або повної блокади реплікації вірусної ДНК і, як наслідок, перешкоджає розмноженню вірусів. Протефлазід викликає збільшення продукції ендогенних б- і γ-інтерферонів, що збільшує неспецифічну резистентність організму до вірусної і бактеріальної інфекції та має антиоксидантні властивості [14].

МЕТА РОБОТИ – визначити особливості рівнів цитокінів крові і SLPI як учасників імуногенезу пієлонефриту та обґрунтувати доцільність використання імунотропних препаратів у хворих на пієлонефрит.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ. Обстежено 83 дорослих пацієнти з гострим (ГПН) або загостренням хронічного пієлонефриту (ХПН) (відповідно, 36 та 47 хворих) віком від 19 до 45 ($32,5 \pm 2,1$), а також 53 дитини віком $7,9 \pm 0,8$ років.

Пацієнти лікувалися в Інститутах нефрології та урології НАМНУ, НМАПО ім. П.Л. Шупика. Діагноз пієлонефриту базувався на традиційних критеріях, що передбачало в кожному випадку збирання анамнезу, клінічної симптоматики, використання лабораторних, рентгенрадіонуклідних, ультразвукових, реносцинтиграфічних, мікробіологічних методів дослідження.

Всі пацієнти мали ознаки гострого (або загострення хронічного) необструктивного пієлонефриту, що було підтверджено стандартними клініко-лабораторними і інструментальними методами. Критеріями активного запального процесу в нирках служили болі в попереку, підвищення температури тіла, загальна кволість, нездужання, біль в області нирок при пальпації, в аналізах сечі - лейкоцитурія, мікрогематурія, протеїнурія, бактеріурія; крові – лейкоцитоз, підвищення ШОЕ. Особлива увага в процесі відбору хворих для лікування, консервативного чи оперативного, приділялась диференціації серозної та гнійної стадій запального процесу. З цією метою поряд з клінічними критеріями велике значення приділя-

лось даним ультразвукового, рентгенологічного, радіонуклідного дослідження.

Представники класичних бактерій виділено у 75 (90%) обстежених пацієнтів, молекули у 28 (34 %) хворих, гриби роду *Candida* – лише у 8 (9,6%). За видовим спектром найбільшу частину серед виділених бактерій склали представники кишкової групи, тобто ентеробактерії. Так, наприклад, *Escherichia coli* було виділено у 41 (49%) хворих. Другими за кількістю були представники роду ентерококів – 16 (18%). Стафілококи склали третю за кількістю групу, де найчастіше виділяли *Staphylococcus haemolyticus* – у 12 (13%) хворих.

Майже у половини обстежених були рецидиви герпетичної інфекції; діагностично значущий рівень Ig G до ВПГ встановлено у 25%, до ЦМВ – у 34% хворих, для їх виявлення використовували тест-системи виробництва “Orgenics” (Ізраїль) та “Вектор-Бест” (Росія). Тестування цитокінів до та після курсу терапії проводилось за допомогою імуноферментного методу на аналізаторі Stat Fax 303 Plus; тест-системи “Diacclone” (Франція), “DRG” (Німеччина), “Invitrogen” та “Bender Medsystems” (США), а SLPI – “Hucult biotechnology” Human SLPI (Нідерланди); межі нормальних значень (референтний діапазон) були отримані на основі результатів дослідження 25 умовно здорових осіб (для SLPI – 15).

Традиційна схема консервативного лікування, яку застосовують у клініці, передбачала проведення антибактеріальної, дезінтоксикаційної та десенсибілізуючої терапії. 20 пацієнтів, які отримували антибактеріальну терапію відповідно результатам бактеріального посіву сечі (фторхінолони, цефалоспорини, нітрофурані), склали групу порівняння (1 гр). На фоні антибактеріальної терапії в 2 гр. (23 хворих) призначали Нуклеїнат 4 рази на добу у дозі 0,25 г 21 день; в 3 гр. (20 хворих) – Галавіт внутрішньом’язево по 0,1 г (2 мл) на добу через день № 10. В 4 гр. (20 пацієнтів з діагностично значущими титрами антитіл до ВПГ та/або ЦМВ) разом з антимікробною терапією додатково застосовували розчин Протефлазиду 3 рази на день за наступною схемою: на 1-й тиждень лікування по 5 крапель (0,2 мл), нанесеними на грудочку цукру або хліба, на 2 та 3-й тиждень – по 10 крапель (0,4 мл), на 4-й тиждень – по 8 крапель (0,3 мл). У 53 дітей з ПН (5 гр.) використовували Канефрон відповідно рекомендованим віковим дозам протягом 30 днів.

Отримані дані оброблені статистично на персональному комп’ютері за допомогою пакета програм “SPSS for Windows. Версія 11” та “MedStat”. Для статистичної обробки використовувались параметричні критерії статистики – тест Ст’юдента або непараметричний – критерій Уїлкоксона; для кореляційного аналізу – коефі-

цієнт Кендала. Достовірною вважали різницю при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ. Дослідження показали достовірне підвищення в крові хворих рівнів досліджених прозапальних цитокінів ($p < 0,05$) (за винятком ІЛ-18), найбільш вираженим (в 4 рази) був зріст середніх рівнів моноцитарного хемоатрактантного протеїну-1 (MCP-1) (рис. 1). Рівень ТФР- β був підвищеним як в сироватці крові – $88,3 \pm 4,7$ в порівнянні з $56,6 \pm 4,3$ пг/мл ($p < 0,001$), так і в 1,5 рази за даними спонтанної та індукованої секреції ($p < 0,05$).

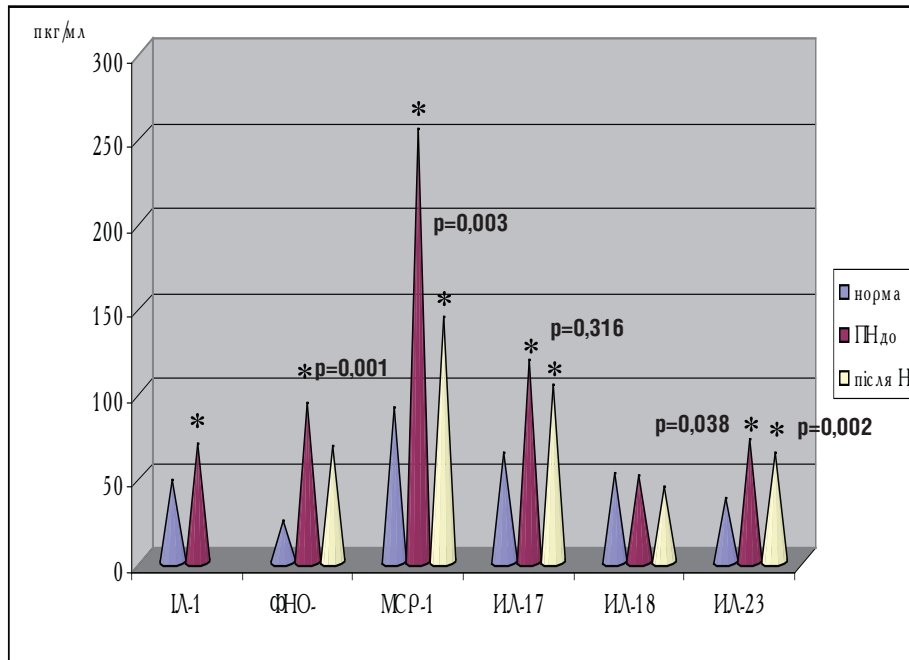
Не виявлено достовірної різниці рівнів цитокінів ($p \geq 0,05$) залежно від того, чи це гострий ПН або клініко-лабораторні ознаки загострення хронічного запалення, за винятком MCP-1 та SLPI, які у разі гострого ПН були найбільш високими (відповідно, $p < 0,001$ і $< 0,05$), тому аналіз в групах проводили незалежно від відносної кількості пацієнтів залежно від діагнозу (ГПН/ХПН).

Дослідження групи порівняння (1 гр) показали, що антибактеріальна терапія не призвела до достовірних змін досліджених цитокінів ($p > 0,05$), за винятком ІЛ-1 (від 60 [45; 75] до 21 [14,5; 25,3] пкг/мл, $p = 0,001$).

Використання Нуклеїнату (2 гр) в комплексній терапії сприяло достовірному зниженню рівнів прозапальних цитокінів, хоча і не до норми, різниця з якою зберігалась для всіх показників ($p < 0,001$), за винятком ІЛ-18 (який і до лікування був нормальним), що оцінюємо як позитивні наслідки дії цього препарату (рис. 1).

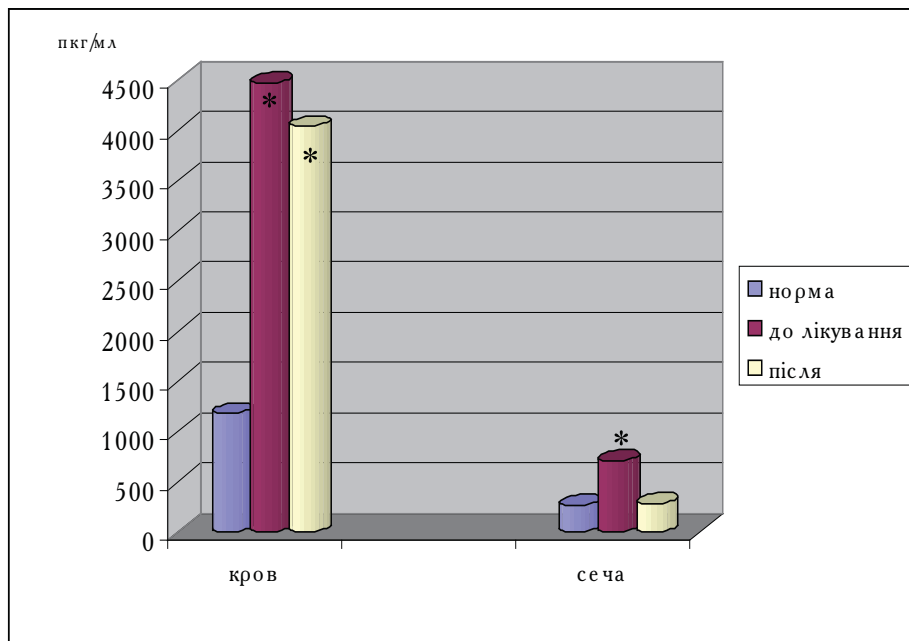
Дослідження SLPI, підвищених в крові і сечі, показали, на відміну від групи порівняння (рис. 4), достовірне зниження після використання Нуклеїнату цих показників в сечі; зміни в крові, так само як і в 1 гр., були недостовірними (рис. 2).

Дослідження клініко-імунологічних ефектів препарату Галавіт в схемі комплексного лікування хворих на ПН показало, що у 7 (30%) хворих відмічались нормалізація t, покращення самопочуття та збільшення сил і працездатності вже на 5-й, тоді як в 1 гр – через 7 днів. Через тиждень лікування скарги на дизурію, ніктурію та часте сечовипускання хворі 2 гр. не мали, на відміну від групи порівняння, в якій у 4 (20%) жінок ці скарги зберігалися. Крім того, у 3 (15%) пацієнток групи порівняння, при дослідженні сечі і зішкрябів з слизової оболонки уретри та цервікального каналу після лікування, було виявлено *U. urealyticum*, тоді як усі хворі, які отримували Галавіт, позбавились інфікування.



* - різниця достовірна порівняно з нормою

Рис. 1. Середні рівні прозапальних цитокінів крові у здорових донорів та хворих на ПН до та після лікування в 2 гр. з використанням Нуклеїнату (Н).



*- різниця достовірна порівняно з нормою, # - до та після лікування

Рис. 2. Рівень SLPI у здорових донорів і хворих 2 гр. до та після лікування з використанням Нуклеїнату

Для аналізу ефектів Галавіту та Протефлазиду додатково досліджували рівні ИЛ-8, γ -ИФ та ТФР- β не тільки в крові, але й в сечі; вони перевищували показники у здорових донорів ($p < 0,001$), які в сечі були низькими (близько до нижньої межі методики). Після лікування Галавітом у хворих достовірно знижувались сироваткові рівні про-

запальних ИЛ-1 в (достовірно знизився і в 1 гр.), γ -ИФ ($p = 0,001$), ФНП- β і ИЛ-8 (рис. 3), а також протизапального, але просклеротичного ТФР- β в 2 рази в крові ($p = 0,003$) (більш виражено ніж в 1 гр) та в 2,5 – в сечі ($p < 0,05$) (в 1 гр динаміки не виявлено).

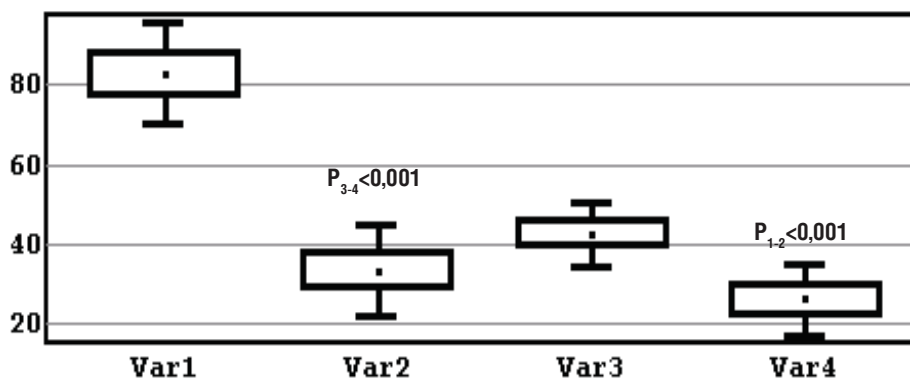


Рис. 3. Динаміка рівнів в крові прозапальних ФНП-6 і ІЛ-8 до (1 і 3) і після лікування з використанням Галавіту (2 і 4).

Дослідження SLPI, підвищених у хворих в крові і сечі, не виявило достовірних змін після лікування в 1 групі (рис. 4), але після Галавіту їх рівень достовірно знизився в крові ($p=0,023$) і сечі ($p=0,039$) (рис. 5). Через рік після лікування середні показники SLPI в крові в 1 групі не відрізнялися від показників як до лікування, так і після курсу терапії ($p>0,05$); рівень в сечі достовірно знизився в порівнянні з вихідними даними ($p<0,05$) (рис. 4).

Через рік після лікування з використанням Галавіту відбувалося достовірне зниження рівня SLPI як в крові, так і в сечі в порівнянні з такими показниками до ($p=0,017$ та $p=0,048$) і відразу після лікування ($p=0,012$ та $p=0,012$) (рис. 5).

Таким чином, дослідження показали, що використання Галавіту в комплексній терапії хворих на ПН сприяє достовірному зниженню рівня SLPI в крові і сечі, тоді як у хворих 1 гр. показники не змінювались після лікування. Обстеження хворих 3 гр. через 1 рік показало зниження рівня SLPI в сироватці крові та сечі в порівнянні з даними до та після курсу лікування, тоді як в групі порівняння за цей час відбулося зниження цього показника тільки в сечі, що є позитивним ефектом використання Галавіту у хворих на ПН.

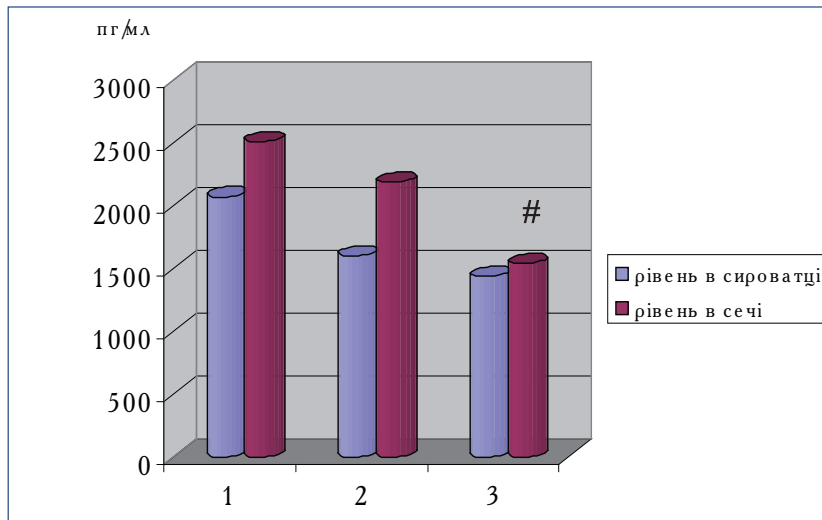
Попередній індивідуальний аналіз причин неефективної терапії 402 хворих на ПН довів, що не досягнуто ерадикації патогенного збудника після антибіотикотерапії у тих, що мали супутній сечостатевиий уреоплазмоз та/або підвищені титри Ig G до певних вірусів (14%). Після етіотропного лікування з використанням Протефлазиду (60) ерадикацію мікроорганізмів як в сечі, так і в зішкрябах з уретри та цервікального каналу досягнуто у всіх хворих, тоді як в групі порівняння (90) *U. urealyticum* не вдалося видалити у 6 (7%) жінок. Частота визначення діагностично-значущих титрів Ig G до певних вірусів мала тенденцію до зменшення в обох групах жінок, але у хворих основної групи частота визначення була

достовірно рідшою ($p=0,05$). Тобто використання Протефлазиду сприяло елімінації *Herpes simplex virus* та *U. Urealyticum*.

Дослідження цитокинової ланки у частини цих пацієнтів (4 гр.) показали, що підвищений більш ніж в 3 рази до лікування рівень прозапального ІЛ-8 достовірно знижувався в групі хворих, що приймали Протефлазид, від $38\pm 2,3$ до $28,8\pm 3,1$ пкг/мл ($p<0,05$); високий рівень цього цитокину в сечі після лікування знижувався в 2 рази ($p<0,05$), в 1 гр достовірних відмінностей не встановлено. Рівень ФНП- β достовірно не змінювався після курсу лікування як в крові ($p>0,05$), так і сечі, тільки через рік в сечі відмічено достовірне зниження показника у хворих, що приймали Протефлазид, але різниці з аналогічними показниками контрольної групи не було ($p>0,05$).

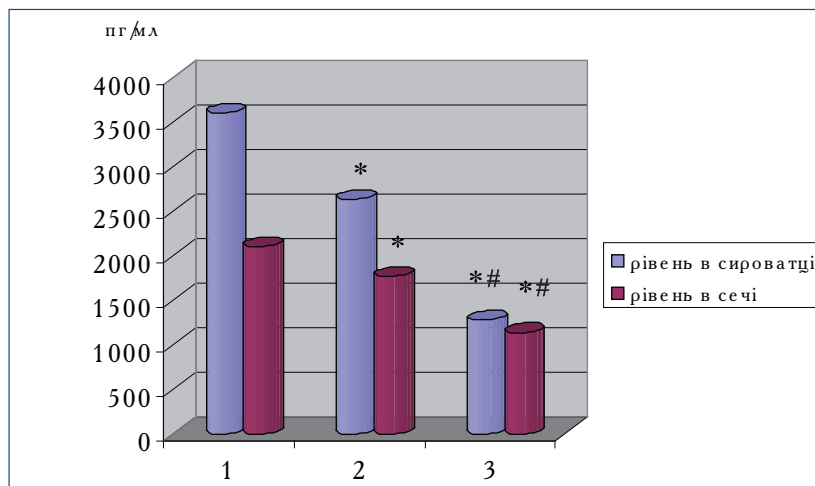
Особливий інтерес викликало дослідження інтерференової ланки, тому визначали не тільки рівень в крові, але й спонтанну та індуквану продукцію γ -ІФ *in vitro*. Дослідження продемонстрували більш високий рівень лімфокіну в крові у хворих на ПН (в 4 гр. – тенденція до зниження, $p<0,1$); спонтанна продукція клітинами не відрізняється від норми, тоді як індукована достовірно знижена ($38,5\pm 3,0$ та $67,4\pm 6,0$ пг/мл, $p<0,05$), що може бути наслідком тривалого запального процесу в нирках, а також того, що майже третина хворих мала діагностично значущий рівень антитіл до вірусів.

Після лікування спонтанна секреція γ -ІФ була знижена як в 4 гр., так і в 1 гр., але у пацієнтів, що отримували Протефлазид, цей показник достовірно вище ($p<0,05$); індукована продукція, яка була знижена до лікування, після терапії знижувалась ще більше в обох групах (рис. 6). Високий рівень цього лімфокіну в сечі знижувався після терапії в обох групах, але в 4 гр. був майже в 6 разів нижче ($p<0,01$), ніж при використанні лише антибіотикотерапії.



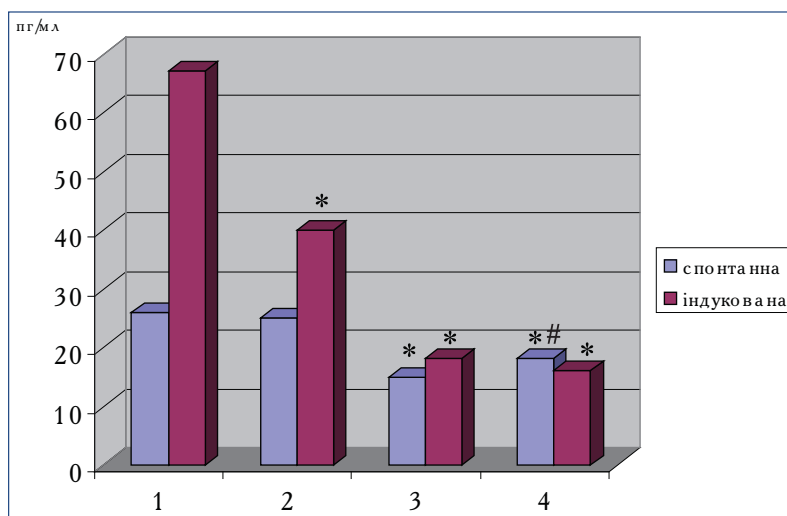
- різниця достовірна в порівнянні з даними до лікування

Рис. 4. Рівень SLPI в сироватці крові та сечі хворих 1 гр. до лікування (1), після курсу лікування (2) і через 1 рік (3).



* - різниця достовірна в порівнянні з даними до лікування; # - з даними після курсу лікування

Рис. 5. Рівень SLPI в сироватці крові та сечі хворих 3 гр. до лікування (1), після курсу лікування (2) і через 1 рік (3).



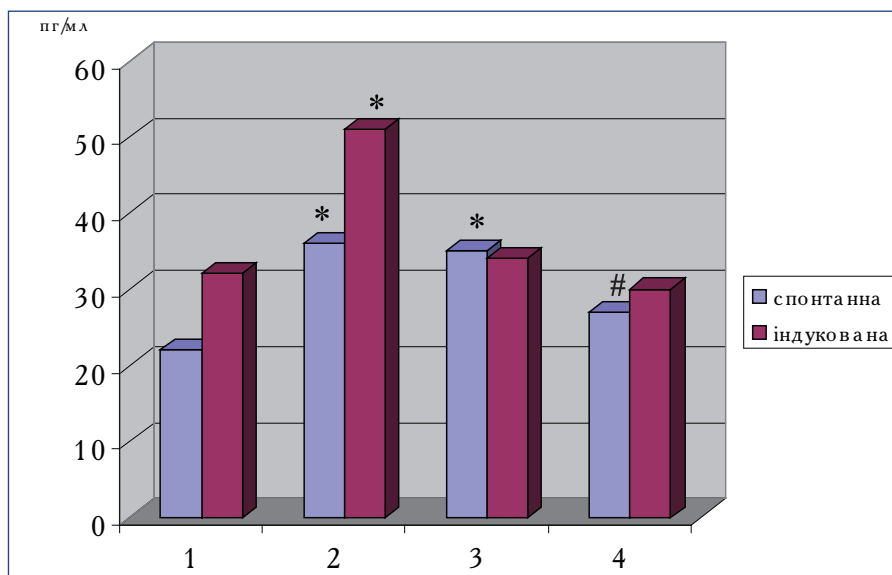
* - різниця достовірна в порівнянні з нормою; # - різниця достовірна при порівнянні груп 1 і 4 після лікування

Рис. 6. Продукція г-ІФ у здорових донорів (1), хворих на ПН до лікування (2), після лікування в 1 гр. (3) та 4 гр. (4).

Зниження в обох групах спонтанної продукції г-ІФ імунокомпетентними клітинами можна вважати результатом впливу антибіотикотерапії, але використання Протефлазиду сприяло меншому зниженню продукції цього прозапального цитокіну, що також є позитивним ефектом. Важливим ефектом лікування з використанням Протефлазиду можна вважати більш низьку, в порівнянні з контрольною гру-

пою, активність прозапальних цитокінів г-ІФ та ІЛ-8 в сечі, що вказує на зменшення запалення в сечовій системі.

У хворих 4 гр. відмічено зниження спонтанної продукції ТФР- β ($p < 0,05$), тоді як в 1 гр. не відбувалось достовірних змін і продукція цього ростового фактору залишалась високою; індукована продукція ТФР- β знижувалась після лікування в обох групах до норми (рис. 7).



* - різниця достовірна в порівнянні з нормою; # - різниця достовірна при порівнянні груп після лікування

Рис. 7. Продукція ТФР- β у здорових донорів (1), хворих на ПН до лікування (2), після лікування в 1 гр. (3) та 4 гр. (4).

Дослідження SLPI не виявили достовірної динаміки в цій групі ($p = 0,136$ для крові та $p = 0,717$ для сечі), через 1 рік після лікування рівень SLPI в крові пацієнтів, що приймали

Протефлазид, достовірно знижувався ($p = 0,038$) і не відрізнявся від норми ($p > 0,05$), а в сечі не змінювався ($p = 0,280$) і залишався високим (рис. 8).

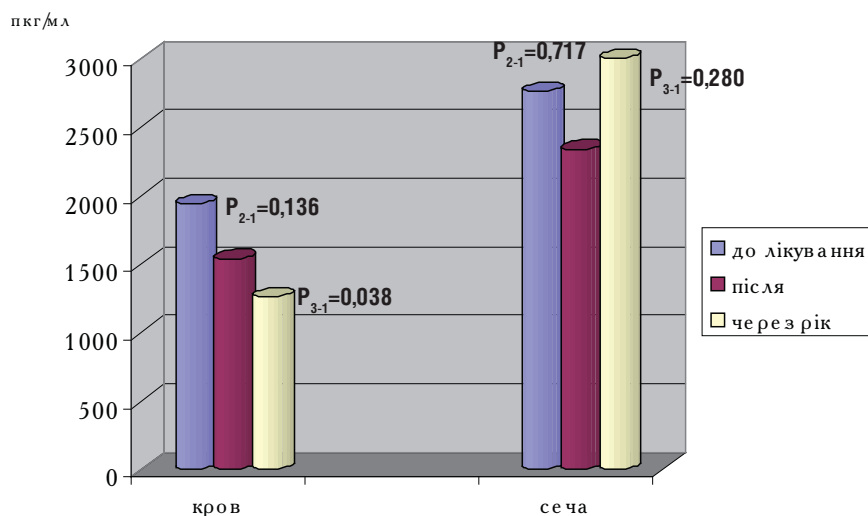


Рис. 8. Рис. 5. Рівень SLPI в сироватці крові та сечі хворих 4 гр. до лікування (1), після курсу лікування (2) і через 1 рік (3).

Терапія з використанням Канефрону у дітей призводила до покращення загального стану хворих та достовірного зниження після 1-місячного курсу препарату прозапальних МСР-1 та ІЛ-23 від 192,7 [116,3; 264,3] до 152 [90,4; 195,9] ($p=0,01$) та 89,2 [72,4; 104,2] до 72,1 [57,2; 82,5] ($p<0,001$). Підрозділ на групи - ГПН (22) та ХПН (31 дитина) - показав, що рівень цитокінів знизився в обох групах, але тільки в останній МСР-1 після терапії з Канефроном не відрізнявся від показника у здорових – $127,1 \pm 15,7$ порівняно з $90,5 \pm 7,9$ ($p=0,064$), тоді як у дітей з ГПН цей показник складав $160,4 \pm 15$ пкг/мл і перевищував норму ($p<0,001$). До норми рівень МСР-1 при ГПН знизився тільки після 3-х місяців використання препарату, і рецидивів захворювання не було, на відміну від групи порівняння, де рецидив ПН документовано в 20,0% випадків ($p<0,05$), а серед пацієнтів, що отримували Канефрон 1 місяць (20 дітей), рецидиви ПН спостерігались в 15,0%.

Таким чином, у хворих на гострий і загострення хронічного пієлонефриту відмічено високий рівень в крові прозапальних медіаторів імунітету – ІЛ-1 β , -8, -17, -23, ФНП- β , МСР-1, γ -ІФ, а також протизапального, але профіброгенного ТФР- β та SLPI, що свідчить про високу активність клітин моноцитарно-макрофагальної системи і Т-хелперів (-1, -17, -регуляторних) по їх продукції.

Використання Нуклеїнату (2 гр) і Галавіту (3 гр) в комплексній терапії сприяло більш вираженому і швидкому клінічному ефекту, достовірному зниженню (на відміну від групи порівняння) сироваткових рівнів прозапальних цитокінів ФНП- β , ІЛ-17, -23, МСР-1 в 2 гр. та ФНП- β , ІЛ-8, γ -ІФ, а також ТФР- β не тільки в крові, але й у сечі пацієнтів 3 гр.

Після курсу лікування цими препаратами зафіксовано достовірне зниження рівнів SLPI в сечі, які були нижче фонових (так само як і показники в крові) при обстеженні через 1 рік, тоді як у хворих після антибактеріальної терапії через 1 рік знижувався цей показник в сечі, а в крові залишався високим.

Вважаємо, що використання Нуклеїнату і Галавіту, які за даними розробників стимулюють фагоцитоз та відновлюють функції клітин моноцитарно-макрофагальної ланки (в тому числі у разі їх високої активності з ризиком зниження резервного потенціалу), забезпечило більш ефективний протиінфекційний захист, результатом чого вважаємо зниження в сечі рівнів деяких цитокінів і SLPI як маркерів запалення.

Лікування з використанням Протефлазиду сприяло більш вираженій ерадикації мікроорганізмів, особливо ВПГ та *U. Urealyticum*, що супроводжувалось зниженням діагностично-значущих титрів Ig G до вірусів, рівнів проза-

пального ІЛ-8 в крові і сечі; на відміну від групи порівняння, відбувалась корекція γ -ІФ ланки в бік підвищення продукції лімфокіну імункомпетентними клітинами та зниження його рівнів в сечі, що свідчить про зменшення запалення в нирках. Про позитивну дію цього препарату на стану імунітету хворих на ПН може свідчити достовірне зниження, на відміну від групи порівняння, рівнів SLPI в крові через рік після лікування.

Використання Канефрону в комплексній терапії дітей сприяло зниженню в крові рівнів МСР-1 і ІЛ-23, що, на нашу думку, відбивало успішну ерадикацію збудників ПН та зменшення ступеня запалення, а прийом цього препарату протягом 3 місяців після антибактеріальної терапії є доцільним при активній стадії ПН та антирецидивним заходом в стадії ремісії у всіх хворих з ПН.

Спостереження хворих протягом 12 місяців довело зменшення рецидивів хронічного та випадків хронізації гострого ПН у пацієнтів досліджених груп (2-5 гр.) порівняно з 1 групою.

ВИСНОВКИ. Отримані дані дозволяють рекомендувати використання Нуклеїнату та Галавіту в схемі комплексного лікування гострого/загострення хронічного ПН. Використання Галавіту, який достовірно знижує продукцію клітинами і рівень в сечі ТФР- β , доцільно і у разі тривалого хронічного запалення нирок для зниження профіброгенних ефектів цього фактору росту та гальмування погіршення функції нирок. Протефлазид вважаємо необхідною складовою терапії пацієнтів з наявністю бактеріальної інфекції на фоні частих рецидивів герпетичної інфекції, а також діагностично-значущих рівнів Ig G до ВПГ, ЦМВ. Для імунореабілітації та запобігання рецидивуванню, особливо для дітей з ПН, вважаємо доцільним використання Канефрону, найбільший протизапальний ефект якого зареєстровано при хронічному ПН.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Авдеева Ж. И. Препараты системы цитокинов / Ж. И. Авдеева, И. А. Алпатов, Н. В. Медуницин // Цитокины и воспаление. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 33.
2. Андріюк Л. В. Від нуклеїнових кислот до препарату Нуклеїнат / Л. В. Андріюк // Новости медицины и фармации. – 2007. – 14 (220). – С. 16-20.
3. Бережная Н. М. Иммунологические исследования в клинике: состояние вопроса / Н. М. Бережная // Иммунология. – 2006. - № 1. – С. 18-23.
4. Бычковских В. А. Цитокиновый статус больных хроническим пиелонефритом единственной почки в раннем послеоперационном периоде при использовании в комплексной терапии иммуномодулятора Бестим / В. А. Бычковских // Цитокины и воспаление. - 2011. - Т. 10, № 1. - С. 60–64.

5. *Вербицкий В. И.* Особенности течения, клиники, диагностики и лечения некоторых заболеваний органов мочевой системы у детей раннего возраста / В. И. Вербицкий // Педиатрия. - 2002. - № 2. - С. 4-9.
6. Галавит. Клиническое использование и механизмы действия. - М. : Внешторгиздат, 2002. - 98 с.
7. *Дадабаева А. К.* Коррекция иммуномодулином нарушенной иммунитета у женщин фертильного возраста, больных хроническим пиелонефритом / А. К. Дадабаева // www.tengamedica.spb.ru /1_2005 / smirnova. Htm.
8. *Дядык А. И.* Инфекции почек и мочевыводящих путей / А. И. Дядык, Н. А. Колесник. - Д.: КП «Регион», 2003. - 400 с. - ISBN 966-7696-63-4.
9. *Каримова И. М.* Герпесвирусная инфекция. Диагностика, клиника, лечение / И. М. Каримова - М. : Мед. информ. агентство, 2004. - 120 с.
10. *Колесник М. О.* Діагностика та лікування інфекцій сечової системи з позицій доказової медицини / М. О. Колесник, Н. М. Степанова // Український журнал нефрології та діалізу. - 2006. - № 2 (10). - С. 45-49.
11. *Латышева Т. В.* Новые возможности направленной иммунологической коррекции на примере отечественного иммуномодулятора «Галавит» / Т. В. Латышева, О. А. Щербакова // Российский аллергологический журнал. - 2004. - № 1. - С. 77-81.
12. *Лопаткин Н. А.* Антибактериальная терапия неосложненного острого цистита и пиелонефрита у взрослых / Н. А. Лопаткин, И. И. Деревянко, Л. С. Страчунский // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. - 2000. - № 1. - С. 69-76.
13. *Малащицкий Д. А.* Состояние иммунной системы у больных острым пиелонефритом / Д. А. Малащицкий [и др.] // Медицинские новости. - 2003. - № 4. - С. 18-21.
14. *Малевиц М. П.* Интерферонмодулююча та апоптозомодулююча активність препарату Протефлазід / М. П. Малевиц, С. Т. Дюдюн, С. Л. Рибалко [та ін.] // Вісн. Вінницького державного медичного університету. - 2002. - № 6 (2). - С. 281-284.
15. *Пак Л. Г.* Уро-Ваксом в профилактике и лечении рецидивирующих инфекций мочевыводящих путей (обзор литературы) / Л. Г. Пак, Л. А. Лурье // Русский мед. ж. - 2004. - Т. 12, № 8. - С. 541-547.
16. Протокол надання медичної допомоги хворим на піелонефрит // Український журнал нефрології та діалізу. - 2005. - № 2 (5). - С. 19-26.
17. *Сепиашвили Р. И.* Основные принципы классификации и применения иммуномодулирующих препаратов в клинической практике. Значение для иммунореабилитологии / Р. И. Сепиашвили // International Journal on Immunorehabilitation. - 2002. - № 4. - С. 209-213.
18. *Синякова Л. А.* Гнойный пиелонефрит (современная диагностика и лечение) : дисс ... докт.мед.наук / Л. А. Синякова - М., 2002. - 213 с.
19. *Скворцов В. В.* Цитомегаловирусная инфекция в клинике внутренних болезней / В. В. Скворцов, Р. Г. Мязин, Д. Н. Емельянов // Лечащий врач. - 2004. - № 9. - С. 8-11.
20. *Страчунский Л. С.* Антибактериальная терапия. Практическое руководство / Л. С. Страчунский, Ю. Б. Белоусов, С. Н. Козлов - М.: «Фармединфо». - 2000. - 56 с.
21. *Стрижаков А. Н.* Патогенетическое обоснование иммунокорригирующей терапии больных острым воспалением придатков матки / А. Н. Стрижаков, А. И. Давыдов, Ж. А. Каграманова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. - 2005. - Т. 3, № 2. - С. 34-37.
22. *Усовецкий И. А.* Применение нового иммуномодулятора Галавита в лечении урогенитальных инфекций / И. А. Усовецкий // Terra Medica. - 2004. - № 2. - С. 45-47.
23. *Хворостов И. Н.* Цитокины и факторы роста в патогенезе обструктивных уропатий у детей / И. Н. Хворостов [и др.] // http:// www.nczd.ru/tez12pr.htm.
24. *Чернушенко Е. Ф.* Иммунокоррегирующая терапия / Е. Ф. Чернушенко // Журнал практического врача. - 2001. - № 1. - С. 2-4.
25. *Alos J. I.* Epidemiology and etiology of urinary tract infections in the community. Antimicrobial susceptibility of the main pathogens and clinical significance of resistance / J. I. Alos // Enferm Infec Microbiol Clin. - 2005. - Vol. 23, Suppl. - P. 3-8.
26. *Aronoff G. R.* The Bennett Tables - Drug Prescribing in Renal Failure / G. R. Aronoff, M. E. Brier, J. S. Bems. - Philadelphia, 2001. - 56 p.
27. *Cohn E. B., Schaeffer A. J.* Urinary tract infections in adults // ScientificWorldJournal. - 2004. - Vol. 4, Suppl 1. - P. 76-88.
28. *Cooper A. C.* Increased expression of erythropoiesis inhibiting cytokines (IFN-gamma, TNF-alpha, IL-10, IL-13) by T-cells in patients exhibiting a poor prognosis of EPO therapy / A. C. Cooper // JASN. - 2003. - V. 14, N 7.- P. 1776-1784.
29. Guidelines on Urological Infections / M. Grabe [et al.] // European Association of Urology. - 2012. - P. 110.
30. *Jin F.* Lipopolysaccharide-related stimuli induce expression of the secretory leukocyte protease inhibitor, a macrophage-derived lipopolysaccharide inhibitor / F. Jin [et al.] // Infect. Immunol. - 2005. - V. 66. - P. 2447-2452.
31. *Kahan N. R.* Physician speciality and adherence to guidelines for the treatment of unsubstantiated uncomplicated urinary tract infection among women / N. R. Kahan, N. L. Friedman, Y. Lomnický [et al.] // Pharmacoepidemiol. Drug Saf. - 2005. - Vol. 14. - P. 357-361.
32. *Levy O.* Antimicrobial proteins and peptides: anti-infective molecules of mammalian leukocytes / O. Levy // J. Leukocyte Biol. - 2004. - Vol. 76. - P. 909-925.
33. *Liang S. C.* Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides / S. C. Liang [et al.] // J. Exp. Med. - 2006. - V. 203. - P. 2271 - 2279.

34. *Mihaila A.* Human alveolar macrophages express elafin and secretory leukocyte protease inhibitor / A. Mihaila, G. M. Tremblay // *Z. Naturforsch.* – 2005. – Vol. 56. – P. 291-297.
35. *Miller L. G.* Treatment of uncomplicated urinary tract infections in an era of increasing antimicrobial resistance / L. G. Miller, A. W. Tang // *Mayo Clin Proc.* – 2004. – Vol. 79. – P. 1048-1053.
36. SLPI and elafin: one glove, many fingers / S. E. Williams, Th. I. Brown, A. Roghanian, J.-M. Sallenave // *Clinical Science.* – 2006. – Vol. 110. – P. 21-35.
37. *Sugama S.* Interleukin-18 and stress / S. Sugama, B. Conti // *Brain research reviews.* – 2008. – 58 (1). – P. 85 – 95.
38. *Tamaki K.* Chronic pyelonephritis : Pathogenesis, pathophysiology, and therapy / K. Tamaki, T. Kusumoto, S. Okuda // *Nippon Rinsho.* – 2006. – Vol. 64, Suppl 2. – P. 485-488.
39. *Wilson M.* Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients / M. Wilson, L. Gaido // *Clin. Infect. Dis.* – 2004. – 38. – P. 1150-1158.

Надійшла до редакції 11.11.2013

Прийнята до друку 08.01.201