

**ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ****Толченникова Елена Николаевна,**

Ассистент кафедры педиатрии № 1

Государственная образовательная организация высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького»
Донецк, Украина**ОСОБЕННОСТИ ЦИТОКИНОВОГО СТАТУСА И ПЕРСПЕКТИВНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ ЕГО
КОРРЕКЦИИ ПРИ ГЕМАТУРИЧЕСКОЙ ФОРМЕ ХРОНИЧЕСКОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА У
ДЕТЕЙ С ЭПШТЕЙН-БАРР ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ****АННОТАЦИЯ**

Обследовано 110 детей в возрасте от 3 до 17 лет с гематурической формой хронического гломерулонефрита с длительностью заболевания $53,4 \pm 5,08$ месяцев. Больным проведено комплексное нефрологическое, вирусологическое обследование, а также определение уровней интерферонов α и γ , интерлейкинов 1 β и 6 в сыворотке крови до лечения и через 6, 12 и 18 месяцев от начала применения комбинированной противовирусной и иммуномодулирующей терапии, которую назначали пациентам с сопутствующей Эпштейн-Барр вирусной инфекцией на фоне общепринятого лечения гломерулонефрита. Контрольную группу составили 29 условно здоровых детей. У детей с гематурической формой хронического гломерулонефрита и сопутствующей хронической Эпштейн-Барр вирусной инфекцией установлено отчетливое снижение содержания сывороточного интерферона α ($2,0 \pm 0,18$ пг/мл), а также интерферона γ ($4,85 \pm 2,98$ пг/мл) по сравнению с детьми контрольной группы, $p < 0,05$. В активной стадии вирусной инфекции степень отклонений изучаемых параметров более значительная, причем, уровень сывороточного интерферона α не зависит от активности хронической Эпштейн-Барр вирусной инфекции, а уровень интерферона γ имеет такую зависимость. Также отмечается статистически достоверное повышение содержания провоспалительных цитокинов: интерлейкина 1 β ($72,15 \pm 1,85$ пг/мл) и интерлейкина 6 ($28,87 \pm 6,67$ пг/мл) по сравнению с показателем детей контрольной группы, $p < 0,05$. При этом повышение уровня интерлейкинов зависит от стадии вирусной инфекции.

Использование комбинированной (противовирусной и иммуномодулирующей) терапии у детей с гематурической формой хронического гломерулонефрита и сопутствующей Эпштейн-Барр вирусной инфекции в течение 18 месяцев приводит к достижению клинико-лабораторной ремиссии гломерулонефрита практически у половины больных (48,5 %), а частичной лабораторной ремиссии – более чем у трети (34,2 %), снижению частоты регистрации у больных признаков активности вирусной инфекции (до 7 %), а также повышению в 2,7 раза уровня интерферона α и в 3,6 раза концентрации интерферона γ , нормализации показателя интерлейкина 1 β и снижению уровня интерлейкина 6.

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит, гематурическая форма, дети, Эпштейн-Барр вирусная инфекция, интерфероны, интерлейкины

Elena Tolchennikova,

Assistant of the Department of Pediatrics No.1

State educational organization of higher professional education "Donetsk National Medical University of M. Gorky"
Donetsk, Ukraine**CHARACTERISTIC OF CYTOKINE STATUS AND PERSPECTIVE DIRECTION OF ITS CORRECTION IN
HEMATURIC FORM OF CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS IN CHILDREN WITH EPSTEIN-BARR
VIRAL INFECTION****ANNOTATION**

Surveyed 110 children aged 3 to 17 years with a hematuric form of chronic glomerulonephritis with a disease duration of 53.4 ± 5.08 months. The patients underwent a comprehensive nephrological and virological examination, as well as the determination of the levels of interferons α and γ , interleukins 1 β and 6 in the blood serum before treatment

and after 6, 12 and 18 months from the start of the use of combined antiviral and immunotropic therapy, which was prescribed to patients with concomitant Epstein-Barr viral infection against the background of conventional treatment for glomerulonephritis. The control group consisted of 29 apparently healthy children. In children with hematuric form of chronic glomerulonephritis and concomitant chronic Epstein-Barr viral infection, a clear decrease in the content of serum interferon α (2.0 ± 0.18 pg / ml), as well as interferon γ (4.85 ± 2.98 pg / ml) compared with children of the control group, $p < 0.05$. In the active stage of viral infection, the degree of deviations of the studied parameters is more significant, and the level of serum interferon α does not depend on the activity of chronic Epstein-Barr viral infection, and the level of interferon γ has such a relationship. There is also a statistically significant increase in the content of pro-inflammatory cytokines: interleukin 1β (72.15 ± 1.85 pg / ml) and interleukin 6 (28.87 ± 6.67 pg / ml) compared with the indicator of children in the control group, $p < 0.05$. At the same time, the increase in the level of interleukins depends on the stage of the viral infection.

The use of combined (antiviral and immunotropic) therapy in children with hematuric chronic glomerulonephritis and concomitant Epstein-Barr viral infection within 18 months leads to the achievement of clinical and laboratory remission of glomerulonephritis in almost half of the patients (48.5%), and in partial laboratory - in more than a third (34.2%), a decrease in the frequency of registration in patients with signs of activity (up to 7%) of a viral infection, as well as a 2.7-fold increase in the level of interferon α and 3.6 times the concentration of interferon γ , normalization of the interleukin 1β index and a decrease in the level of interleukin 6.

Key words: chronic glomerulonephritis, hematuric form, children, Epstein-Barr viral infection, interferons, interleukins.

Актуальность исследования

В настоящее время доказано, что вирусные инфекции способны вызывать многие заболевания почек, связанные с поражением, как клубочкового аппарата, так и интерстициальной ткани [1, 2, 3]. Из числа герпесвирусов ввиду особенностей иммунного ответа и очевидного негативного влияния на характер течения различных вариантов нефрита, пристального внимания заслуживает Эпштейн-Барр вирус (ЭБВ). Установлено его неблагоприятное влияние на течение тубулоинтерстициального нефрита, нефротического синдрома, мезангиопролиферативного и мембранопротрофиеративного гломерулонефрита [4, 5, 6, 7, 8, 9]. Доказано, что ЭБВ вызывает непосредственное повреждение эпителия проксимальных канальцев, мезангиума и подоцитов с последующим развитием иммунного воспаления [5].

Согласно современным воззрениям в патогенезе, индуцированных вирусом заболеваний почек, участвуют несколько механизмов, в т. ч. тропизм вируса к структурам органа, индукция аномальных иммунных комплексов, прямые цитопатогенные эффекты и мультиорганный недостаток [3]. В этой связи в настоящее время у детей с различными вариантами гломерулонефрита интенсивно изучаются особенности иммунного ответа при герпесвирусных инфекциях.

Достижения последних десятилетий в изучении влияния вирусных инфекций на частоту развития и характер поражения почек позволили разработать современные, в целом эффективные методы лечения различных типов герпесвирусных инфекций с использованием комбинаций противовирусных и иммуномодулирующих препаратов [10, 11, 12]. Однако, среди названных инфекций явно недостаточно изучено влияние ЭБВ на течение хронического гломерулонефрита, а также не разработаны дифференцированные подходы к назначению подобных препаратов в зависимости от стадии активности инфекции и степени их влияния на основные клинико-лабораторные проявления и показатели иммунного статуса. В связи с изложенным, представляется важным изучение

иммунных отклонений, связанных, как с текущим воспалительным процессом в почках, так и с наличием сопутствующей хронической Эпштейн-Барр вирусной инфекции (ЭБВИ), для которой свойственны нарушения процессов фагоцитоза, гуморального иммунитета, цитокинового статуса [13, 14]. В подобных условиях объективной оценкой активности иммуновоспалительного процесса и состояния противовирусного потенциала является исследование уровня интерферонов (ИФН) и провоспалительных интерлейкинов (ИЛ), что позволит определить целесообразность и дифференцированный подход к назначению противовирусных и иммуномодулирующих препаратов.

Целью настоящего исследования явилось определение уровня ИФН- α , ИФН- γ и содержания ИЛ- 1β и ИЛ-6 в сыворотке крови, оценка динамики иммунологических нарушений на фоне комбинированной противовирусной и иммуномодулирующей терапии у детей с гематурической формой хронического гломерулонефрита (ГФ ХГН) и сопутствующей хронической ЭБВИ.

Материалы и методы исследования. Под наблюдением находилось 110 детей (48 девочек и 62 мальчика) в возрасте от 3 до 17 лет ($11,8 \pm 0,55$ лет) с ГФ ХГН. Длительность заболевания составила $53,4 \pm 5,08$ месяцев. В I группу вошли 54 больных, у которых установлена сопутствующая ЭБВИ (49,1%). При этом у 64,8% из них констатировали активную стадию инфекции. II группу составили 56 детей с ГФ ХГН без сопутствующей ЭБВИ.

Больным проведено комплексное нефрологическое, вирусологическое обследование (определяли антитела класса IgM VCA, IgG EA, IgG VCA, IgG EBNA и вирусный антиген в крови, слюне, моче с целью установления наличия ЭБВИ и стадии ее активности). Иммунологическое обследование включало определение уровня ИФН- α , ИФН- γ и содержание ИЛ- 1β и ИЛ-6 в сыворотке крови методом ИФА на фотометре-анализаторе «Stat Fax 303 Plus» ИФА тест системой ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Контрольную группу составили 29 условно здоровых детей.

На фоне общепринятого лечения ГФ ХГН пациентам с сопутствующей ЭБВИ назначали комбинированную противовирусную и иммуотропную терапию хронической ЭБВИ в виде препарата рекомбинантного α -2 β ИФН (Виферон®) и препарата, содержащего флавоноиды *Deschampsia caespitosa* L. и *Calamagrostis epiriquous* L. (Протефлазид®). Виферон® применяли в дозе 150-500 тыс. ЕД в зависимости от возраста 2 раза в день ежедневно 10 дней, далее в течение одной недели 3 раза в неделю, затем 4 – 6 недель 2 раза в неделю. Протефлазид® использовали в течение трех месяцев в возрастных дозировках. Больные получили три курса терапии с перерывом в три месяца между ними. Наличие признаков активности хронической ЭБВИ определяло необходимость дополнительного включения ацикловира. Препарат назначали в возрастной дозировке в течение семи дней с последующим переходом на поддерживающую дозу в течение 20 дней.

Эффективность проведенной терапии оценивали путем проведения нефрологического, вирусологического и иммунологического обследования через 6, 12 и 18 месяцев. Эффективность проводимой терапии в группах оценивали путем анализа основных клинико-

лабораторных проявлений ГФ ХГН, а также по результатам вирусологического и иммунологического обследования через 6, 12 и 18 месяцев наблюдения, а также путем сопоставления результатов лечения с таковыми у пациентов, которые получали только общепринятую терапию основного заболевания.

Результаты исследований и их обсуждение
Исследование состояния противовирусного потенциала показало (табл.1), что большинство детей с ГФ ХГН и сопутствующей ЭБВИ характеризуются низким содержанием, как ИФН- α ($2,0 \pm 0,18$ пг/мл), так и, особенно, ИФН- γ ($4,85 \pm 2,98$ пг/мл) по отношению к соответствующим показателям детей контрольной группы ($12,56 \pm 5,71$ пг/мл и $44,92 \pm 23,87$ пг/мл, соответственно; $p < 0,05$). Установленное выраженное, более чем в 10 раз, снижение содержания ИФН- γ у таких больных, вероятнее всего, связано с нарушением функциональной активности Т-хелперов 1 типа, которые, как известно, принимают участие в продукции ИФН- γ [15]. В свою очередь, пониженные значения ИФН- α указывают на снижение уровня противовирусной защиты, что можно объяснить нарушениями в моноцитарно-макрофагальном звене иммунитета и снижением функциональной активности натуральных киллеров [12].

Таблица 1

Содержание интерферонов и провоспалительных интерлейкинов у детей с гематурической формой хронического гломерулонефрита и сопутствующей хронической ЭБВИ (М $\pm$ м)

Показатели, пг/мл	ГФХГН+ ЭБВИ, n=54	Хроническая ЭБВИ		Контрольная группа, n=29
		Активная, n=35	Без реактивации, n=19	
ИФН- α	$2,0 \pm 0,18^b$	$2,10 \pm 0,18^b$	$2,37 \pm 0,27^b$	$12,58 \pm 5,72$
ИФН- γ	$4,85 \pm 2,98^b$	$4,46 \pm 0,59^b$	$13,90 \pm 5,27^{ab}$	$44,87 \pm 23,76$
ИЛ-1 β	$72,15 \pm 1,85^b$	$72,15 \pm 1,8^b$	$34,7 \pm 4,26^{ab}$	$14,62 \pm 12,12$
ИЛ-6	$28,87 \pm 6,67^b$	$28,87 \pm 6,67^b$	$16,1 \pm 2,97^{ab}$	$3,59 \pm 1,69$

Примечания: ^a - достоверное отличие от группы детей с хронической активной ЭБВИ ($p < 0,05$), ^b - достоверное отличие от контрольной группы ($p < 0,05$).

Оценивая содержание интерферонов в крови у обследованных больных в зависимости от активности хронической ЭБВИ следует подчеркнуть, что при активной ее стадии уровень ИФН- γ ($4,46 \pm 0,59$) оказался в три раза ниже, чем у детей с ГФ ХГН и сопутствующей хронической ЭБВИ без реактивации ($13,90 \pm 5,27$; $p < 0,05$). В то же время снижение ИФН- α не зависело от активности ЭБВИ ($p > 0,05$).

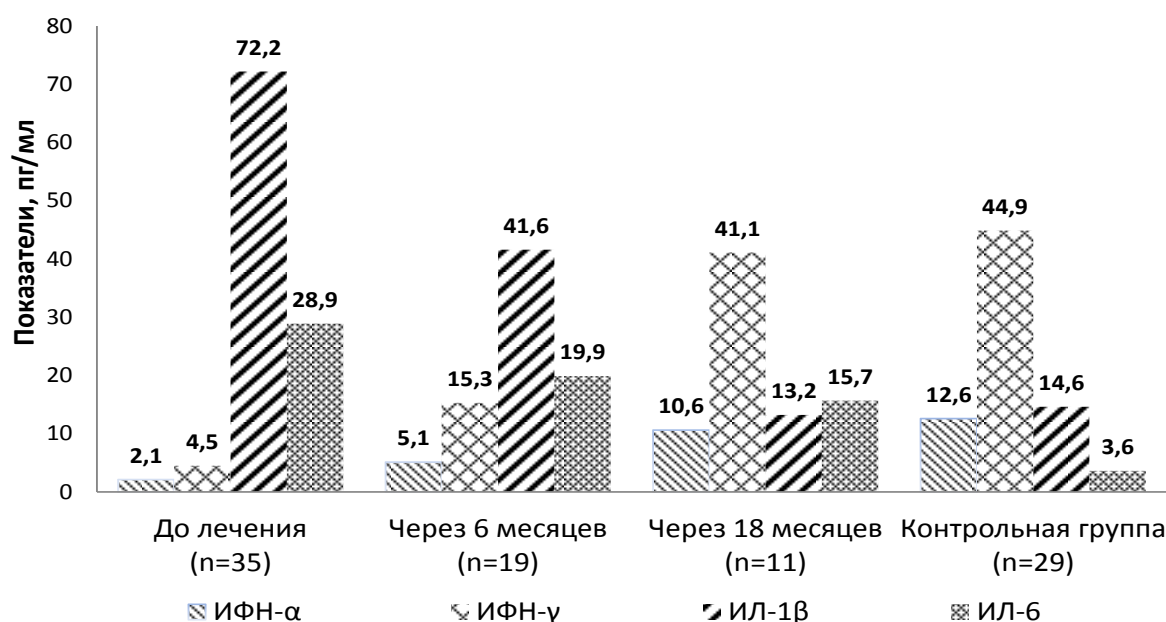
Результаты исследования уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-6 показали достоверное повышение ($p < 0,05$) уровня как ИЛ-1 β ($72,15 \pm 1,85$ пг/мл), так и ИЛ-6 ($28,87 \pm 6,67$ пг/мл) у детей с ГФ ХГН и хронической ЭБВИ по сравнению с пациентами контрольной группы. В случаях ГФ ХГН и хронической активной ЭБВИ уровень ИЛ-1 β и ИЛ-6 оказался в два раза выше, чем в группе больных без реактивации. Установленный факт можно рассматривать как отражение активности и тяжести патологического процесса при ГФ ХГН, а наличие сопутствующей хронической активной ЭБВИ – в качестве фактора, потенцирующего тяжесть

воспалительного процесса в почках [14].

Использование у детей с торпидным течением ГФ ХГН и сопутствующей активной хронической ЭБВИ последовательных курсов противовирусной и иммуотропной терапии позволило достигнуть полной клинико-лабораторной ремиссии гломерулонефрита практически у половины больных (48,5 %), а частичной лабораторной ремиссии – более чем у трети (34,2 %), что суммарно составило 82,7 %. Преимущество применения подобной терапии ГФ ХГН с сопутствующей активной хронической ЭБВИ очевидно. При сопоставлении результатов лечения с таковыми в группе, где пациенты по поводу основного заболевания получали только общепринятую терапию выяснилось, что за 18 месяцев наблюдения среди больных этой группы полная клинико-лабораторная ремиссия диагностирована в 17,1 % случаев, а частичная клинико-лабораторная ремиссия – у 20 %, что суммарно составило 37,1 %. Очевидным признаком терапевтического эффекта последовательных курсов комбинированной терапии

явилось значительное сокращение числа пациентов с признаками активности вирусной инфекции: через 6 месяцев наблюдения таковые регрессировали более чем у половины больных, через 12 месяцев - более чем у 2/3. После 3-х курсов проведенной терапии маркеры, свидетельствующие об активности инфекции, сохранялись только в 7% случаев (у 4 из 35 пациентов). При этом отмеченная динамика сопровождалась позитивными сдвигами цитокинового статуса. Использование повторных курсов комбинированной терапии привело к нормализации в сыворотке крови уровней ИФН- α , ИФН- γ , ИЛ-1 β и значительному снижению уровня

ИЛ-6 (рис.1). Через 18 месяцев наблюдения отмечено повышение в 2,7 раза уровня ИФН- α и в 3,6 раза концентрации ИФН- γ . После третьего курса терапии показатели ИФН- α и ИФН- γ у обследованных больных достоверно не отличались от показателей контрольной группы. Показатель ИЛ-1 β в сыворотке крови после трех курсов противовирусной и иммуностропной терапии достоверно не отличался от показателей контрольной группы, а уровень ИЛ-6 через 18 месяцев также снизился, однако не достигая среднего значения показателя детей контрольной группы.



Ри

сунк 1 - Динамика цитокинового статуса при гематурической форме хронического гломерулонефрита у детей с сопутствующей хронической активной ЭБВИ на фоне терапии (glomerulonephritis in children with concomitant chronic active EBVI on a background therapy)

Выводы:

1. У детей с ГФ ХГН и хронической ЭБВИ отмечается снижение уровня сывороточного ИФН- γ , причем более выраженное в активной стадии ЭБВИ. Значительное снижение сывороточного ИФН- α не зависит от активности сопутствующей хронической ЭБВИ.
2. При ГФ ХГН и хронической ЭБВИ у детей наблюдается повышение уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ИЛ-6, которое более выражено в активной стадии хронической ЭБВИ.

3. Применение повторных курсов комбинированной противовирусной и иммуностропной терапии приводит наряду с положительной динамикой клинико-лабораторных проявлений ГФ ХГН, снижением частоты регистрации у больных признаков активности хронической ЭБВИ, к нормализации уровней в сыворотке крови ИФН- α , ИФН- γ , ИЛ-1 β и значительному снижению концентрации ИЛ-6, что подтверждает обоснованность назначения подобной терапии.

Список литературы/ References

1. Бархатова Т.В. Распространенность маркеров герпесвирусных инфекций при хронической патологии почек у детей. *Мед альм.* 2011;(6):196–199. [Barhatova T.V. The prevalence of markers of herpesvirus infections in chronic renal disease in children. *Med al'm.* 2011;(6):196–199. (in Russ)].
2. Кругликова И. В., Фомина С. П., Багдасарова И. В. Герпесвирусная инфекция у детей, больных хроническим гломерулонефритом. *Современная педиатрия.* 2015.4(68):115-118. [Kruglikova I. V., Fomina S. P., Bagdasarova I. V. Herpesvirus infection in children with chronic glomerulonephritis. *Sovremennaya pediatriya.*

2015;4(68):115-118; (in Russ)].

3. Лындин А. А. Герпесвирусная инфекция и ее роль в поражении почек. Рос вестн перинатол и педиатр 2010;55(6):69–77. [Lyndin A. A. Herpesvirus infection and its role in renal injury. *Ros vestn perinatol i pediatri.* 2010;55(6):69–77. (in Russ)].

4. Игнатова М. С., Длин В. В., Никишина Т. А., и др. Вирусная инфекция Эпштейна–Барра у больной с гормонорезистентным нефротическим синдромом: этиологический фактор или фактор прогрессирования гломерулонефрита. *Нефрология и диализ.* 2005;7(1):70–72. [Ignatova M. S., Dlin V. V., Nikishina T. A. et al. Viral infection Epstein-Barr in a patient with hormoneresistant nephrotic syndrome: etiological factor or factors of the progression of glomerulonephritis. *Nefrologija i dializ.* 2005;7(1):70–72. (in Russ)].

5. Wenderfer S.E. Viral-associated glomerulopathies. *Pediatr Nephrol.* 2015;30(11):1929–1938.

6. Diana R., Malka H., Silvia R. et al. Cholecystitis and nephrotic syndrome complicating Epstein–Barr virus primary infection. *Paediatrics and International Child Health.* 2017;37(1):74-77.

7. Iwafuchi Y., Morioka T., Morita T. et al. Nephrotic Syndrome without Hematuria due to Infection-Related Glomerulonephritis Mimicking Minimal Change Disease in a Child. *Case Rep.Nephrol. Dial.* 2016;6(1):14-20.

8. Ozgurhan G. Acute Kidney Injury Complicated Epstein-Barr Virus Infection in Infancy. *Case Reports in Pediatrics.* 2015(6):1-3.

9. Dossier C., Sellier-Leclerc A.L. et al. Prevalence of herpesviruses at onset of idiopathic nephritic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2014;29(12):2325–2331.

10. Ершов Ф.И., Наровлянский А.Н. Использование индукторов интерферона при вирусных инфекциях. *Вопросы вирусологии.* 2015;60(2):5-10. [Ershov F.I., Narovlyansky A.N. Usage of interferon inducers during viral infections. *Problems of Virology.* 2015;60(2):5-10. (In Russ.)].

11. Нечепоренко Н. В., Савенкова Н. Д., Калинина Н. М. Клинико-морфологические, иммунологические изменения и особенности терапии при вирусассоциированном гломерулонефрите у детей. *Нефрология.* 2015;19(3):51–58. [Necheporenko N. V., Savenkova N. D., Kalinina N. M. Clinical, morphological, immunological changes and features therapy for virusassociated glomerulonephritis in children. *Nefrologija.* 2015;19(3):51–58. (in Russ)].

12. Симован'ян Э. Н. Эпштейна-Барр вирусная инфекция у детей: совершенствование программы диагностики и лечения. *Детские инфекции.* 2016;1:15-24. [Simovan'jan Je. N. Infection of Epstein-Barr virus in children: modern aspects of diagnosis and treatment. *Children's infections = Detskie infekcii.* 2016;1:15-24 (in Russ.)].

13. Жизневская И. И., Хмелевская И. Г., Разинькова Н. С., Миненкова Т. А., Яковлева А. В. Особенности иммунного статуса у детей с острыми и хроническими гломерулопатиями. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье».* 2017;(4):42-45. [Zhiznevskaya I. I., Khmelevskaya I. G., Razinkova N. S., Minenkova T. A., Yakovleva A. V. Features of the immune status in children with acute and chronic glomerulopathy. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health".* 2017;(4):42-45. (In Russ.)].

14. Барычева Л. Ю., Голубева М. В., Волкова А. В. Факторы и механизмы иммуносупрессии при Эпштейна-Барр вирусной инфекции. *Детские инфекции.* 2014;13(2):28-33. [Barycheva L.Yu., Golubeva M.V., Volkova A.V. Factors and mechanisms of immunosuppression in Epstein-Barr virus infection. *Children infections.* 2014;13(2):28-33. (In Russ.)].

15. Железникова Г. Ф., Васякина Л. И., Монахова Н. Е. и др. Апоптоз и иммунный ответ у детей с острым инфекционным мононуклеозом. *Иммунология, аллергология, инфектология.* 2000;4:87–94. [Zheleznikova G. F., Vasyakina L. I., Monakhova N. E. et al. Apoptosis and the immune response i n chi ldren with acute infectiou s mononucleosis. *Immunologiya, allergologiya, infektologiya = Immunology, Allergology, Infectology.* 2000;4:87-94. (In Russ.)].