



NOWE LOKALNE MARKERY STANU ZAPALNEGO W DIAGNOSTYCE RÓŻNICOWEJ ZAKAŻEŃ UKŁADU MOCZOWEGO U NAJMŁODSZYCH DZIECI

New local inflammatory markers in the diagnosis of
urinary tract infections among infants



Jędrzej Piotr Przekora¹, Aleksandra Mateja¹, Katarzyna Jobs¹

1. Klinika Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej CSK MON WIM, Polska

Streszczenie: Zakażenia układu moczowego są jedną z najczęstszych infekcji wieku dziecięcego. Prawidłowe pobranie moczu w grupie dzieci najmłodszych stwarza trudności techniczne, a w konsekwencji prowadzi do uzyskiwania, po kilkudniowym czasie oczekiwania, fałszywie dodatnich wyników badań bakteriologicznych. W przypadku niejednoznacznego wyniku badania ogólnego moczu włączenie antybiotyku bywa opóźnione do czasu otrzymania wyniku badania bakteriologicznego, co może przyczynić się do nasilenia zakażenia oraz zwiększenia ryzyka powikłań. Jednocześnie często dochodzi do sytuacji włączenia antybiotykoterapii w przypadkach, gdy leukocyturia wynika z niepoprawnego pobrania próbki moczu, a wyhodowane w badaniu bakteriologicznym patogeny są wynikiem zanieczyszczenia. Naraża to dzieci na niepotrzebne wyjaławianie naturalnej flory jelitowej oraz stopniowe narastanie oporności bakterii na stosowane antybiotyki. Z tego względu poszukuje się nowych biomarkerów stanu zapalnego różnicujących zakażenia układu moczowego od zakażeń gorączkowych o innej przyczynie. W artykule przedstawiono badane nowe lokalne markery stanu zapalnego, które mogą być pomocne w diagnostyce ZUM. Są to: białko YKL40, lipokalina związana z żelatynazą neutrofilii, interleukina 8 i 6, Kidney Injury Molecule-1 oraz kalprotektyna.

Abstract: Urinary tract infections (UTI) are among the most common childhood diseases. Proper urine collection in the youngest children is technically difficult and therefore can lead to false-positive results of bacteriological tests obtained after several days of waiting. In case of inconclusive urinalysis results, antibiotic administration is delayed until obtaining the result of bacteriological test, which may aggravate the infection and increase the risk of complications. At the same time, antibiotic is often administered in cases where leukocyturia is due to inadequate urine sampling and pathogens are cultured in a bacteriological test as a result of contamination. This exposes children to unnecessary destruction of normal intestinal bacterial flora and gradual build-up of bacterial resistance to antibiotics. Therefore, new inflammation biomarkers are being sought in order to differentiate urinary tract infections from febrile illnesses of other causes. The paper presents new local inflammatory markers that may be helpful in diagnosis of UTI. They include: YKL40 protein, neutrophil gelatinase-associated lipocalin, interleukin 8 and 6, Kidney Injury Molecule-1 and calprotectin.

Słowa kluczowe: zakażenia układu moczowego, dzieci, kalprotektyna, YKL40.

Key words: urinary tract infections, infants, calprotectin, YKL40.

DOI 10.53301/lw/146727

Praca wpłynęła do Redakcji: 05.12.2021

Zaakceptowano do druku: 15.02.2022

Autor do korespondencji:

Jędrzej Piotr Przekora
Klinika Pediatrii, Nefrologii i Alergologii Dziecięcej
CSK MON WIM
e-mail: jprzekora@wim.mil.pl

Wstęp

Zakażenia układu moczowego (ZUM) są jedną z najczęstszych infekcji wieku dziecięcego. W zależności od lokalizacji rozróżnia się zakażenia górnych i dolnych dróg moczowych. Infekcje z zajęciem miąższu nerek charakteryzują się zwykle gwałtownym początkiem objawów, wysoką temperaturą oraz bólami brzucha lub okolicy lędźwiowej. Zapaleniu dolnych dróg moczowych towarzyszą objawy dyzuryczne (ból podczas mikcji, częstomocz), zmiana zapachu moczu oraz – u dzieci – utrata łaknienia. W grupie dzieci najmłodszych (do 2-3 roku życia) zwykle obserwuje się skąpoobjawowy przebieg, często z gorączką jako jedynym objawem. Stwarza to znaczące trudności diagnostyczne w różnicowaniu

ZUM z innymi przyczynami gorączki i wiąże się z częstym zalecaniem wykonania badania ogólnego moczu (BOM) w tej grupie wiekowej.

Badanie ogólne moczu wraz z badaniem bakteriologicznym są złotym standardem w diagnostyce ZUM. Zaleca się wykonanie BOM oraz badania bakteriologicznego pobierając mocz ze środkowego strumienia, ewentualnie cewnikując dziecko lub pobierając mocz przez nakłucie nadłonowe pęcherza moczowego. Zgodnie z zaleceniami Polskiego Towarzystwa Nefrologii Dziecięcej (PTNF) za znamiennej leukocyturię uznaje się stwierdzenie obecności powyżej 5 leukocytów w polu widzenia (wpw) w moczu nieodwirowanym lub obecność powyżej 10 leukocytów wpw w moczu odwirowanym. Za znamiennej bakteriurię

natomiast, uznaje się wzrost bakterii w posiewie powyżej 105 CFU/ml w moczu pobranym metodą środkowego strumienia, 104 CFU/ml w moczu cewnikowanym oraz jakkolwiek wzrost bakterii patogennych w moczu z nakłucia nadłonowego [1]. W najnowszych wytycznych PTNF z 2021 r., obecnie w trakcie publikacji, autorzy rekomendują, że w przypadku nakłucia nadłonowego za znamieną bakteriurię powinniśmy uznać dopiero wzrost bakterii 103 CFU/ml.

U najmłodszych dzieci prawidłowe pobranie moczu do badania techniką środkowego strumienia stwarza znaczne trudności techniczne. Niejednokrotnie dochodzi do zanieczyszczenia próbki i otrzymania niediagnostycznych wyników. Ponadto badanie to nie pozwala w szybki sposób wykluczyć zakażenia ze względu na kilkudniowy czas oczekiwania na wynik posiewu moczu. Wobec powyższego, poszukuje się nowych biomarkerów stanu zapalnego różnicujących ZUM od zakażeń gorączkowych o innym punkcie wyjścia. Dotychczasowe badania pozwalają pokładać nadzieję w parametrach, takich jak: białko YKL40, lipokalina związana z żelatynazą neutrofilii, interleukina 8 i 6, Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) oraz kalprotektyna.

Ludzka glikoproteina chrząstkowa 39 (YKL-40)

Białko YKL40 w moczu znane jest również jako ludzka glikoproteina chrząstkowa 39 (HC gp-39) lub białko 1 podobne do chitynazy 3 (CHI3L1). YKL40 uczestniczy w ostrych i przewlekłych procesach zapalnych, angiogenezie oraz włóknieniu. Wydzielane jest przez szereg komórek układu odpornościowego, w tym neutrofile i makrofagi gromadzące się w miejscu zakażenia, powodując w ZUM lokalny wzrost stężenia YKL40 w moczu (uYKL40) [2].

Hyun Hee Kim i wsp. oceniali przydatność uYKL40 w diagnostyce gorączkowego przebiegu zakażenia układu moczowego u dzieci. Oznaczyli stężenie uYKL40 u dzieci gorączkujących z ZUM i porównali do grupy kontrolnej dzieci gorączkujących z innych przyczyn. Rozpoznanie zakażenia układu moczowego opierało się na dodatnim wyniku badania bakteriologicznego moczu ze znamieną bakteriurią w korelacji z objawami klinicznymi. Uzyskane wartości ocenianego współczynnika uYKL40/kreatynina były znacząco wyższe u dzieci z rozpoznaniem ZUM w porównaniu do grupy kontrolnej. U dzieci w grupie kontrolnej, u których w badaniu ogólnym stwierdzono leukocyturię przy ujemnym posiewie moczu, współczynnik ten był niższy, niż u dzieci w grupie z ZUM. Na podstawie uzyskanych wyników przyjęto punkt odcięcia powyżej 125pg/mg uYKL40/kreatyniny, jako wartość umożliwiającą rozpoznanie ZUM. Przy takiej wartości ocena współczynnika charakteryzowała się wysoką czułością i swoistością [3]. Do podobnych wniosków w swojej pracy doszli El-Saeed Mashaly i wsp. Mierzyl stężenie uYKL40 oraz uNGAL w grupie dzieci gorączkujących z potwierdzonym badaniem bakteriologicznym ZUM w porównaniu do dzieci z gorączką przy ujemnym posiewie moczu oraz do grupy kontrolnej dzieci zdrowych. Każda z trzech grup liczyła po 50 dzieci. Zarówno stężenie uYKL40, jak i współczynnik uYKL40/kreatynina były znacząco wyższe u dzieci z potwierdzonym zakażeniem układu moczowego w porównaniu do pozostałych dwóch grup. Natomiast różnice

średnich wartości tych parametrów pomiędzy grupą dzieci zdrowych, a dzieci gorączkujących z innych przyczyn niż ZUM, nie były statystycznie istotne. Na podstawie analizy danych autorzy uznali za punkt odcięcia w diagnostyce różnicowej stężenie uYKL40 171,5 pg/mg, a wartość współczynnika uYKL40/kreatynina 159,2 pg/mg, osiągając tym samym odpowiednio 84% czułości i 82% swoistości oraz 72% czułości i 71% swoistości. Dodatkowo uYKL40 charakteryzował się wyższą czułością i swoistością w rozpoznawaniu zakażenia układu moczowego w porównaniu do uNGAL. Pomimo obiecujących wyników badacze zwrócili uwagę na ograniczenia badania, takie jak: niewielka grupa badana, niemożność wykluczenia korelacji podwyższonego stężenia YKL40 w moczu ze stężeniem YKL40 w surowicy badanych oraz braku kontroli stężenia YKL40 po leczeniu a także jego dynamiki zmian w trakcie terapii [4]. Jakkolwiek w świetle dotychczasowych doniesień oznaczanie YKL40, jako kolejnego parametru w diagnostyce ZUM, wydaje się użyteczne, to parametr ten wymaga dalszych badań.

Lipokalina związana z żelatynazą neutrofilii (NGAL)

Lipokalina związana z żelatynazą neutrofilii (NGAL – neutrophil gelatinase-associated lipocalin) jest białkiem zaliczanym do rodziny lipokalin. Jej obiecująca funkcja jako biomarkera wczesnego uszkodzenia nerek oraz zakażeń układu moczowego związana jest ze znamienym wzrostem stężenia tego białka we krwi i moczu w odpowiedzi na zakażenie [5].

Valdimarsson i wsp. starali się ocenić przydatność NGAL jako kolejnego markera zapalenia w diagnostyce ZUM u małych dzieci. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że stężenie NGAL było znamienne wyższe u dzieci z ZUM w porównaniu do dzieci gorączkujących z innej przyczyny. NGAL w moczu w stężeniu bezwzględnym i przedstawiony jako współczynnik stężenia NGAL w moczu do stężenia kreatyniny w moczu miał czułość 93% i 96% oraz swoistość 95% i 100% dla diagnozy zakażenia dróg moczowych, przy stężeniu odcięcia 38 ng/mL i 233 ng/mg. Zdaniem autorów u dzieci z gorączką i wysokim stężeniem uNGAL zakażenie układu moczowego jest wysoce prawdopodobne, co daje możliwość wczesnego rozpoczęcia leczenia. W przypadku gorączki i niskiego stężenia uNGAL należy poszukiwać innych przyczyn objawów [5].

Krzemień i wsp. analizowali natomiast przydatność stężenia NGAL w surowicy krwi, a także jego korelację z CRP i PCT w diagnostyce różnicowej ostrego infekcyjnego cewkowo-śródmiąższowego zapalenia nerek (OCŚZN), w porównaniu do zapalenia dolnych dróg moczowych wśród dzieci najmłodszych. Mediana stężenia sNGAL a także PCT i CRP były istotnie wyższe u dzieci z OCŚZN w porównaniu z dziećmi z zakażeniem dolnych dróg moczowych. Jednocześnie u dzieci z OCŚZN częściej występowała gorączka, a jej czas trwania – do czasu włączenia leczenia – był zdecydowanie dłuższy [6].

Forester i wsp. zauważają, że jednoczesny wzrost NGAL w osoczu i w moczu może świadczyć o zakażeniu uogólnionym w przebiegu ostrego odmiedniczkowego zapalenia nerek, natomiast w przypadku wzrostu stężenia w moczu, przy prawidłowym stężeniu NGAL w osoczu,

prawdopodobne jest zakażenie dolnych dróg moczowych bez uogólnionej reakcji zapalnej [7].

Interleukina 6 i 8

Interleukina 6 jest prozapalną cytokiną uważaną za jeden z głównych czynników regulujących mechanizm obronny, w tym indukcję gorączki i zwiększoną produkcję białek ostrej fazy. Interleukina 8 jest cytokiną chemotaktyczną odpowiedzialną za migrację granulocytów do miejsca zakażenia i rozwój ropomoczu. Interleukiny 6 i 8 są obecne jedynie w śladowych ilościach w moczu osób zdrowych, natomiast u dzieci i dorosłych z różnymi postaciami infekcji dróg moczowych stężenie tych cytokin w moczu jest znacznie podwyższone. W przypadku zakażenia dróg moczowych IL-6 i IL-8 są wytwarzane przez nabłonek moczowy w odpowiedzi na infekcje bakteryjne [8]. Pomiar stężenia IL-6 i IL-8 w moczu może być więc przydatny w ocenie lokalizacji i ciężkości zapalenia w obrębie dróg moczowych. Krzemień i wsp. zauważyli, że wzrost stężenia obu cytokin jest znacznie większy u dzieci z zakażeniem układu moczowego o przebiegu gorączkowym, w porównaniu do dzieci z zakażeniem układu moczowego o przebiegu bezgorączkowym. Intensywność odpowiedzi IL-8 może więc korelować z ciężkością ZUM i związanym z tym uszkodzeniem nerek u dzieci [8]. Stężenie IL-8 szybko obniża się po zastosowaniu leczenia [9]. Wzrost IL-8 obserwowano również w innych patologiach: odplywach pęcherzowo-moczowodowych, wrodzonych wadach układu moczowego, [5] a także w zespole hemolityczno-mocznicowym, chorobie Kawasaki, przewlekłych glomerulopatiach [9]. Jest to więc czuły, ale mało swoisty marker dla zakażeń układu moczowego [5]. W opisanych przypadkach wzrost współczynnika IL-8/kreatynina koreluje z zaostrzeniem choroby. Oznaczanie stężenia IL-8 w moczu u niemowląt bez zakażenia układu moczowego wydaje się obiecującym markerem w ocenie pacjentów z grupy wysokiego ryzyka wad wrodzonych oraz niemowląt ze zdiagnozowanym poszerzeniem miedniczek nerkowych [9].

Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1)

Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1) to transbłonowe białko typu 1, z domeną immunoglobuliny i mucyny, którego ekspresja jest znacznie zwiększona w kanalikule proksymalnym w ostrej niewydolności nerek. Podobne wyniki obserwowano w przewlekłych chorobach nerek o różnej etiologii: pierwotnej chorobie zapalnej nerek takiej jak zapalenie kłębuszków nerkowych i zapalenie naczyń, w cukrzycy, nefropatii alopreszczepowej i raku nerkowokomórkowym. Aktywność KIM-1 wzrasta wcześniej niż konwencjonalnych biomarkerów ostrego uszkodzenia nerek (kreatyniny i BUN). Białko to nie jest markerem stanu zapalnego, ale może służyć jako moczowy marker ostrego uszkodzenia kanalików nerkowych. Dzieci z najmłodszej grupy wiekowej z zakażeniem układu moczowego mogą rozwinąć przednerkowe ostre uszkodzenie nerek z powodu odwodnienia i hipoperfuzji nerek w wyniku gorączki, zmniejszonego łaknienia i wymiotów. Z tego powodu obserwuje się zmianę stężenia KIM-1 w zakażeniach układu moczowego u dzieci [10].

Krzemień i wsp. w swoich badaniach wykazali, że mediana stężenia KIM-1 w surowicy (sKIM-1) była istotnie

wyższa zarówno w grupie niemowląt z zakażeniem układu moczowego o przebiegu gorączkowym, jak i bezgorączkowym w porównaniu z grupą kontrolną. Nie stwierdzono znaczącej różnicy stężenia sKIM-1 w grupach dzieci z ZUM z gorączką i bez gorączki. Natomiast średnie stężenia KIM-1 w moczu (uKIM-1) były znacznie niższe w grupie niemowląt gorączkujących z zakażeniem układu moczowego w porównaniu z grupą z ZUM o przebiegu bezgorączkowym i grupą kontrolną dzieci zdrowych. Nie znaleziono natomiast znaczącej różnicy stężenia uKIM-1, porównując grupę kontrolną i niemowlęta z zakażeniem układu moczowego o przebiegu bezgorączkowym.

Podsumowując, w badaniu stwierdzono, że stężenie KIM-1 w surowicy rośnie w ZUM o przebiegu zarówno gorączkowym, jak i bezgorączkowym, w moczu natomiast spada w ZUM o przebiegu gorączkowym. Krzemień i wsp. wykazali, że sKIM-1 ma wysoką specyficzność, ale niską czułość w diagnozowaniu ZUM o przebiegu gorączkowym, jednak zarówno sKIM-1, jak i uKIM-1 nie są użyteczne w diagnostyce ZUM o przebiegu bezgorączkowym [10]. Yim i wsp. oraz Lee i wsp. w swoich pracach wykazali natomiast, że stężenie KIM-1 w moczu może być wykorzystywane w diagnostyce zakażenia układu moczowego u dzieci. Stwierdzili oni wzrost współczynnika KIM-1 w moczu do stężenia kreatyniny w moczu u dzieci z ZUM przebiegającym z gorączką. Jednak czułość tego markera była stosunkowo niska (45%-76%) [11, 12]. Różne rezultaty cytowanych prac mogą wynikać ze wzrostu stężenia KIM-1 w moczu w ZUM u dzieci z nierozpoznanym subklinicznym AKI [10].

Kalprotektyna

Kolejnym biomarkerem badanym pod kątem przydatności w diagnostyce ZUM jest stężenie kalprotektyny w moczu. Kalprotektyna jest heterodimerem dwóch białek kalgranuliny A (S100A8) i kalgranuliny B (S100A9). Wydzielana jest w organizmie, przede wszystkim przez granulocyty i monocyty, jako białko ostrej fazy w trakcie reakcji zapalnej. Występuje ponadto, w niewielkich stężeniach, we wszystkich płynach ustrojowych i kale, również u osób zdrowych [13]. Oznaczenie podwyższonego stężenia kalprotektyny znalazło już szerokie zastosowanie w diagnostyce chorób, takich jak: reumatoidalne zapalenie stawów, choroba Leśniowskiego-Crohna oraz wrzodziejące zapalenie jelit. Do tej pory badacze oceniali przydatność kalprotektyny w moczu w grupie pediatrycznej głównie jako parametr pozwalający na różnicowanie ostrego uszkodzenia nerek (AKI) z przyczyn przednerkowych i nerkowych. W swojej pracy Basiratnia i wsp. porównywali stężenie kalprotektyny w moczu u dzieci z ostrym miężdżowym uszkodzeniem nerek (45 pacjentów), przednerkowym AKI (30 pacjentów) oraz w grupie kontrolnej 20 zdrowych dzieci. Średnie stężenie kalprotektyny w moczu u dzieci z nerkowym AKI było 36 razy wyższe niż w grupie z przednerkowym AKI oraz 44 razy wyższe niż u dzieci zdrowych. Dodatkowo oceniono, że stężenie kalprotektyny rosło wraz ze wzrostem stopnia ciężkości uszkodzenia nerek. Również współczynnik kalprotektyna/kreatynina w moczu był 140 razy wyższy u dzieci z nerkowym AKI, w porównaniu do grupy z przednerkowym AKI. Stężenie kalprotektyny w moczu na poziomie 230 ng/ml pozwalało na rozróżnienie z 95% czułością i 100% swoistością przednerkowego i nerko-

wego AKI Jednym z kryteriów wykluczenia z badania było rozpoznane zakażenie układu moczowego z uwagi na lokalny wzrost stężenia kalprotektyny, który mógłby wpłynąć na wyniki. W grupie dzieci najmłodszych infekcja dróg moczowych często wiąże się z zajęciem miększu nerek. Warto zatem rozważyć ocenę, w kolejnych badaniach, przydatności kalprotektyny w moczu w rozpoznaniu ZUM w tej grupie wiekowej [14].

Podsumowanie

Biorąc pod uwagę obserwowane powszechnie trudności w diagnozowaniu ZUM w oparciu o wyniki badania ogólnego moczu, w tym leukocyturię pojawiającą się jako skutek nieprawidłowego pobrania materiału, znalezienie markera, który pozwoliłoby na różnicowanie pomiędzy fałszywie dodatnimi wynikami badania ogólnego moczu i prawdziwym zakażeniem, byłoby cenną pomocą diagnostyczną. Być może, w przyszłych badaniach jedno z omówionych w tym artykule białek okaże się nowym złotym standardem diagnostyki zakażeń układu moczowego u najmłodszych dzieci.

Piśmiennictwo

1. Żurowska A (red.). Zalecenia Polskiego Towarzystwa Nefrologii Dziecięcej dotyczące postępowania z dzieckiem z zakażeniem układu moczowego. 2012; <http://ptnfd.org/wp-content/uploads/2012/07/Zalecenia-PTND.pdf>
2. Volck B, Price PA, Johansen JS, Sørensen O, Benfield TL, Nielsen HJ, Calafat J, Borregaard N. YKL-40, a mammalian member of the chitinase family, is a matrix protein of specific granules in human neutrophils. *Proc Assoc Am Physicians*, 1998; Jul-Aug; 110 (4): 351-60
3. Hyun H.K et al. Urinary YKL-40 as a Candidate Biomarker for Febrile Urinary Tract Infection in Young Children. *Annals of Laboratory Medicine*, 2018; 38; 39-45
4. Mashaly G, El-Kazzaz S and Zeid M. Urine YKL-40 versus Urine NGAL as Potential Markers for Diagnosis of Urinary Tract Infection in Febrile Pediatric Patients. *Open Journal of Immunology*, 2020; 10; 10-20
5. Valdimarsson S, Jodal U, Barregård L, Hansson S. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin and other biomarkers in infants with urinary tract infection and in febrile controls. *Pediatr Nephrol*, 2017 Nov; 32 (11): 2079-2087
6. Krzemień G, Pańczyk-Tomaszewska M, Kotuła I, Demkow U, Szmigielska A. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin for predicting acute pyelonephritis in infants with urinary tract infection. *Central European Journal of Immunology*, 2019; 44 (1): 45-50
7. Forester C, Dawarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: utility in urologic conditions. *Pediatr Nephrol*, 2017; 32; 377-381
8. Krzemień G, Roszowska-Blaim M, Kostro Izabella et al. Urinary levels of interleukin 6 and interleukin 8 in children with urinary tract infections to age 2. *Med Sci Monit*, 2004; 10 (11): 593-597
9. Bitsori M, Karatzi M, Dimitriou H et al. Urine il-8 concentrations in infectious and non-infectious urinary tract condition. *Pediatr. Nephrol*, 2011; 26; 2003-2007
10. Krzemień G, Turczyn A, Pańczyk-Tomaszewska M et al. Prognostic value of serum and urine kidney injury molecule-1 in infants with urinary tract infection. *Central European Journal of Immunology*, 2019; 44 (3): 262-268
11. Yim HE, Yim H, Bae ES, et al. Predictive value of urinary and serum biomarkers in young children with febrile urinary tract infections. *Pediatr. Nephrol*, 2014; 29; 2181-2189
12. Lee H-E, Kim DK, Kang HK, et al. The diagnosis of febrile urinary tract infection in children may be facilitated by urinary biomarkers. *Pediatr. Nephrol*, 2015; 30; 123-130
13. Leticia Reyes et al. The Role of Calgranulins in Urinary Tract Infection. *Clinical Management of Complicated Urinary Tract Infection*, 2011
14. Basiratnia, Mitra & Kosimov, Masrus & Farhadi, Pouya & Azimi, Arsalan & Hooman, Nakysa: Urinary Calprotectin as a Marker to Distinguish Functional and Structural Acute Kidney Injury in Pediatric Population. *Iranian Journal of Pediatrics*, 2017