

ИНДЕКС РАННЕГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК У ДЕТЕЙ С ПУЗЫРНО-МОЧЕТОЧНИКОВЫМ РЕФЛЮКСОМ

Д. Ю. Лакомова — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздравсоцразвития России, отдел клинической фармакологии и патофизиологии НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии, младший научный сотрудник.

INDEX OF EARLY RENAL DAMAGE IN CHILDREN WITH VESICoureTERAL REFLUX

D. Yu. Lakomova — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Scientific Research Institute of Fundamental and Clinical Urology, Department of Clinical Pharmacology and Pathological Physiology, Junior Research Assistant.

Дата поступления — 22.03.2012 г.

Дата принятия в печать — 05.06.2012 г.

Лакомова Д. Ю. Индекс раннего повреждения почек у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом // Саратовский научно-медицинский журнал. 2012. Т. 8, № 2. С. 318–324.

Цель: установить наиболее чувствительные и объективные критерии раннего повреждения почек у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом (ПМР) на основании исследования в моче биомаркёров воспаления (MCP-1); фиброгенеза (TGF- β 1); повреждения структур нефрона (коллагена IV типа, α -GST, π -GST); ангиогенеза (VEGF). **Материал и методы.** Обследованы 80 пациентов с ПМР различной степени до и через 6 месяцев после лечения. **Результаты.** Разработан «индекс раннего повреждения почек», который рассчитывался как соотношение уровней VEGF и коллагена IV типа. **Заключение.** Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать расчет индекса раннего повреждения почек в педиатрической практике с целью своевременного контроля за состоянием почечной паренхимы почек у детей на фоне данной патологии.

Ключевые слова: пузырно-мочеточниковый рефлюкс (ПМР), дети, индекс раннего повреждения почек.

Lakomova D. Yu. Index of early renal damage in children with vesicoureteral reflux // Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2012. Vol. 8, № 2. P. 318–324.

Objective: To determine sensitive and objective criteria of nephrosclerosis by testing the levels of markers of inflammation (MCP-1), fibrogenesis (TGF- β 1), renal parenchymal damage (collagen type IV, α -GST, π -GST), angiogenesis (VEGF) in urine of children with vesicoureteral reflux (VUR). **Materials and methods:** 80 patients with different stages of VUR have been observed before and 6 months after treatment. **Results:** «Index of early renal damage» can be found as correlation between VEGF and collagen type IV concentration. **Conclusion:** Estimation of «index of early renal damage» could be included in pediatric practice for the control of urinary tract dysfunction in children with VUR.

Key words: vesicoureteral reflux (VUR), children, index of early renal damage.

Введение. Изучению механизмов формирования нефросклеротического процесса на фоне obstructивных уropатий посвящено достаточное количество работ [1]. Однако до настоящего времени отсутствуют точные и неинвазивные методы ранней диагностики, мониторингования и прогнозирования повреждения почек у детей с ПМР.

В последнее десятилетие отмечен повышенный интерес исследователей к изучению биологических маркёров повреждения почек: цитокинов, факторов роста, ангиогенеза, играющих важную роль в формировании нефросклероза у детей на фоне данной патологии [2]. При этом степень участия различных биологических активных веществ в развитии и прогрессировании поражения почек у больных с ПМР изучена недостаточно. Определение в моче маркёров ангиогенеза, воспаления, фиброгенеза позволило бы дополнить представления о механизмах поддержания инфильтративного процесса в мочевыводящих путях (МВП) и инициации нефросклероза у пациентов на фоне рефлюкса, а мониторинг факторов повреждения почечной паренхимы в динамике течения заболевания — дать оценку эффективности комплексной терапии и прогнозировать характер течения заболевания. Однако данное направление в

клинической практике не получило широкого распространения.

В детской нефрологии и урологии высоко востребованы скрининговые, чувствительные и специфичные методы диагностики нефросклеротических изменений у детей с ПМР, которые позволили бы регистрировать минимальные отклонения в структурно-функциональном состоянии почек. Выявление ранних стадий почечного рубцевания определило бы более рациональный подход к вопросам оптимального срока и выбора метода лечения, длительности ренопротективной терапии.

Цель: повышение точности ранней диагностики и прогнозирования нефросклероза у детей с ПМР на основании исследования биологических маркёров повреждения почечной паренхимы. Исходя из того, что структурно-функциональной единицей почки является нефрон, а ведущая роль в инициации и прогрессировании нефросклероза принадлежит сосудистым и тканевым изменениям в рамках воспалительного процесса, целесообразным считали исследование в моче маркёров фиброгенеза — трансформирующего фактора роста-бета1 (TGF- β 1), ангиогенеза — васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF), воспаления — моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), повреждения основных структур нефрона — π -глутатион-S-трансферазы (π -GST) и альфа-глутатион-S-трансферазы (α -GST), коллагена

Ответственный автор — Лакомова Дарья Юрьевна.

Адрес: 410074, г. Саратов, ул. 4-ый Кедровый проезд, 1, кв. 2.

Тел.: 8 937 144 92 55.

E-mail: dlmedic@mail.ru

IV типа в моче в динамике течения патологии (до и через 6 месяцев после лечения).

Методы. Обследовано 80 детей с ПМР. Все пациенты в соответствии со степенью рефлюкса и методом его коррекции были разделены на три группы. 25 пациентам (41 почка) со II–III степенями рефлюкса проводилось консервативное лечение (1-я группа), 39 пациентам (55 почек) с III–V степенями рефлюкса — эндоскопическая коррекция (2-я группа), 16 пациентам (23 почки) с III–IV степенями рефлюкса — реимплантация мочеточников (3-я группа). Средний возраст пациентов составил $4,5 \pm 3,6$ года. Группу сравнения составили 20 детей с малой хирургической патологией (пупочной или паховой грыжей) в предоперационном периоде, стратифицированных по возрасту и полу.

В 1-й группе II степень рефлюкса диагностирована у 22 пациентов (90%), III — у 3 пациентов (10%). Комплекс консервативных мероприятий по лечению ПМР заключался в антибактериальной терапии с учетом чувствительности возбудителя к антибактериальным препаратам в период обострения пиелонефрита с последующим длительным приемом уроантисептиков в возрастных дозировках. Эффективность лечения через 6 месяцев составила 82%.

Во 2-й группе III степень рефлюкса диагностирована у 23 пациентов (59%), IV степень — у 15 пациентов с ПМР (38%), V степень — у одного пациента (3%). Эндоскопическая коррекция рефлюкса путем эндоимплантации биодегенерируемых препаратов (коллаген, уродекс) выполнена у 20 пациентов (51%) на 30 мочеточниках (55%). Эндоскопическая коррекция рефлюкса путем введения биостабильного препарата ДАМ+ выполнена у 19 пациентов (48%) с ПМР на 25 мочеточниках (45%). Эндоскопическая коррекция у этих пациентов выполнялась с использованием стандартной методики введения имплантата: subureteral transurethral injection (STING) и модифицированных методик: double hydrodistention implantation technique (double HIT) и implantation periureteral transpositional (IPT). Эффективность лечения составила 65%.

В 3-й группе III степень рефлюкса диагностирована у двух пациентов (13%) в две почки (9%). Реимплантация мочеточников при III степени рефлюкса выполнялась после неэффективной двукратной эндоимплантации биостабильным препаратом либо после неэффективной трехкратной эндоимплантации, если при первом этапе имплантировался биодегенерируемый препарат. IV степень рефлюкса диагностирована у 14 пациентов (87%) с ПМР в 21 почку (91%). Реимплантации мочеточников были представлены преимущественно открытыми оперативными вмешательствами — 91% (21 мочеточник). Пневмозикоскопическая реимплантация выполнена на двух мочеточниках. Операции выполнялись различными доступами: внутривезикулярным (операция Козна), внепузырным (операция Грегуара) и комбинированным (операция Лидбеттера — Политано). Операция Козна выполнена на 17 мочеточниках (73%). Операция Грегуара произведена на двух мочеточниках (10%). Операция Лидбеттера — Политано осуществлена на четырех мочеточниках (17%). Эффективность данного вида лечения составила 97%.

Констатация ПМР производилась на основании стандартного комплекса урологического обследования, который включал: общий анализ мочи, ультразвуковое исследование почек до и после мочеиспускания, микционную цистоуретрографию,

доплерографию сосудов почек, экскреторную урографию, динамическую нефросцинтиграфию. Оценка структурного состояния и размеров почек, сохранности кровотока и функции почек давала возможность судить о повреждении почечной паренхимы на фоне данной патологии, что отмечается и в последних литературных данных [3].

Определение в моче биомаркеров повреждения паренхимы почек проводили методом твёрдофазного иммуноферментного анализа с помощью тест-систем «Вектор БЕСТ» (Россия), «Invitrogen», «Argutus Medical» и «Bender Medsystems» (Австрия).

Исследованию TGF- β 1 как основного индуктора формирования фиброза посвящено немало работ. При этом сведения о степени его участия в формировании рубцевания почечной паренхимы остаются противоречивыми. В литературе имеются данные только о характере изменения мочевого уровня TGF- β 1 в зависимости от степени ПМР [4]. Однако нет информации относительно содержания данного маркера в моче в зависимости от метода его лечения, а также длительности существования нарушенной уродинамики.

В качестве индикатора нарушения почечной гемодинамики исследовали содержание VEGF в моче, усиленный выброс которого связан с развитием тканевой гипоксии. В литературе приводятся сведения о его важной роли в поддержании адекватной гемодинамики на микроциркуляторном уровне и использовании его преимущественно для диагностики тубулоинтерстициального фиброза на фоне хронического гломерулонефрита [5]. Однако отсутствуют данные по изучению данного фактора в рамках нефросклеротического процесса на фоне ПМР. Определение мочевого уровня VEGF у детей с рефлюксом даст возможность не только установить тяжесть почечного повреждения и интенсивность тканевой гипоксии, но и оценить обратимость патологических изменений в почках в зависимости от степени рефлюкса и длительности его существования. Кроме того, выявленные изменения VEGF в моче в динамике течения заболевания позволят по-новому взглянуть на выбор срока и метода лечения данной патологии.

Для определения характера течения воспалительного процесса в МВП и оценки условий для прогрессирования почечного повреждения исследовали содержание в моче MCP-1. Данный фактор является основным хемокином, обеспечивающий миграцию и экстравазацию мононуклеарных клеток в очаг воспаления с формированием инфильтратов. Следует отметить, что имеющиеся зарубежные и отечественные работы посвящены изучению данного маркера в моче при различных формах гломерулонефрита [6]. Определение MCP-1 в моче является необходимым элементом диагностики латентного хронического воспаления в МВП при обструктивных уропатиях. Именно длительное течение воспалительного процесса в почечной паренхиме способствует поддержанию и прогрессированию нефросклероза [7]. Установленные на ранних этапах течения заболевания изменения данного фактора в моче дадут возможность изменить подход к ведению пациентов с ПМР и, возможно, предотвратить прогрессирование процесса склерозирования в почках. Кроме того, важно было уточнить характер взаимоотношений TGF- β 1 и MCP-1 при развитии нефросклероза в зависимости от этапа его формирования на фоне рефлюкса. В литературе имеются данные по определению зако-

номерностей изменения указанных биомаркёров в моче, но при хроническом гломерулонефрите [8].

Учитывая, что базальная мембрана играет ведущую роль в работе гломерулярного филтра и нефрона в целом, посчитали целесообразным изучить характер изменения в моче основного компонента данной структуры — коллагена IV типа. Имеются лишь единичные сведения по исследованию коллагена IV типа в моче у больных с диабетической нефропатией [9]. Определение данного фактора позволило бы дополнить представления о механизме повреждения почечной паренхимы в зависимости от тяжести ретроградного заброса мочи в динамике течения патологии.

Также посчитали необходимым изучить первичность повреждения проксимальных и дистальных канальцев нефрона. Несмотря на закономерное повреждение данных элементов при обструктивных уропатиях, нами не найдено работ по исследованию в моче таких трансмембранных ферментов, как π -GST и α -GST. Именно эти маркёры позволят диагностировать преимущественную локализацию тубулоэпителиального повреждения.

Статистический анализ результатов обследования и лечения пациентов проведен с использованием пакета прикладных программ Statistica 9,0 for Windows корпорации StatSoft-Russia (2009). Для сравнения выборок по количественным признакам использовали критерий Вилкоксона для парных сравнений. Достоверными считались различия при $p \leq 0,05$.

Результаты. Полученные при анализе результаты стандартных клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования при ПМП в основном согласуются с современными представлениями о диагностике и течении данной патологии, отраженными в отечественной и зарубежной литературе [3, 4].

Анализ результатов исследования мочи у 80 пациентов различных групп с ПМП показал, что активная фаза пиелонефрита была диагностирована у четверти всех пациентов до начала лечения и у 10% пациентов после коррекции ПМП.

Комплексное ультразвуковое исследование проведено у 80 пациентов (129 почек). Выраженных рубцовых изменений почечной паренхимы не было выявлено ни у одного больного. 128 почек были расположены в обычном месте, поясничная дистопия диагностирована у одного пациента; 8% почек были удвоенными. Неоднородность структуры паренхимы зарегистрирована в двух почках. Размеры 79% почек были достоверно уменьшенными ($p < 0,004$). Размеры почек у детей с IV и V степенями рефлюкса были значительно меньше, чем у детей со II ($p < 0,001$) и III степенями ПМП ($p < 0,01$).

При доплерометрии сосудов почек в динамике течения заболевания у всех детей первой группы зарегистрирован нормальный почечный кровоток. Снижение почечного кровотока отмечено в 50% почек у детей с эндоскопической коррекцией и в 70% почек у больных с реимплантацией мочеточников вне зависимости от успешности ликвидации рефлюкса.

Анализ данных экскреторной урографии у детей младшей возрастной группы и динамической нефросцинтиграфии у пациентов старшего возраста позволил определить нарушение секреторной функции только в 6% почек у детей 2 и 3-й групп до лечения и в 13% почек — после лечения.

Для оценки морфологических изменений у пациентов 3-й группы исследованию были подвергнуты биоптаты дистальных отделов мочеточников после

их реимплантации, а также почек после нефрэктомии по поводу их вторичного сморщивания на фоне рефлюкса. В микропрепаратах мочеточников субэпителиальный и периваскулярный склерозы занимали от 80 до 97% среза. В микропрепаратах почек отмечался выраженный инфильтративный процесс преимущественно за счет лимфоидных клеток, а также выраженный диффузный склероз.

Таким образом, анализ результатов комплексного обследования пациентов всех групп позволил установить четкую взаимосвязь между возрастом пациентов, степенью и длительностью существования рефлюкса, методом его коррекции и частотой выявляемых структурных и функциональных изменений почек. Однако определить начало формирования нефросклероза, ранние изменения микроциркуляции в паренхиме почек, уровень повреждения нефрона с помощью стандартного комплекса исследований не представлялось возможным.

Для оценки результатов исследования биологических маркёров повреждения почек в исследуемых группах нами определены уровни данных факторов в моче у детей, не имеющих патологии мочевого выделительной системы. Полученные данные были приняты за норму.

У больных 1-й группы в моче до начала лечения установлено повышение содержания TGF- β 1 по отношению к показателями группы сравнения. Повышение мочевого содержания TGF- β 1 указывало на его иницирующее действие в формировании нефросклероза. Достоверно значимых изменений количества MCP-1 в моче отмечено не было (табл. 1). Одновременное повышение содержания TGF- β 1 и отсутствие изменения уровня MCP-1 в моче подтверждали факт начального этапа формирования нефросклероза, что, вероятно, было связано с сохранностью подавляющего большинства нефронов и незначительным количеством белка в ультраfiltrате, обладающего нефротоксическим действием. Именно белок, активируя ядерный фактор тубулоэпителиальных клеток, способствует их повреждению и освобождению MCP-1 через апикальную мембрану в просвет канальцев. Кроме того, появление данного хемокина в моче возможно посредством диффузии через мембрану эпителиальных клеток канальцев при его высокой концентрации внутри клетки. Нормальная концентрация MCP-1 в моче свидетельствовала о низком его уровне в экстрацеллюлярном пространстве и соответственно начальных стадиях образования моноцитарно-макрофагальных инфильтратов, о чем указывали данные некоторых отечественных и зарубежных авторов [10]. В 1-й группе больных выявлено исходное увеличение уровня VEGF в моче по отношению к группе сравнения (см. табл. 1), что указывало на развитие локальной тканевой гипоксии и ремоделирование кровотока уже при малой степени рефлюкса. Среди факторов повреждения основных структур нефрона почек у пациентов этой группы, следует отметить, что в моче исходно наблюдалось повышение количества π -GST и коллагена IV типа.

Во 2-й группе пациентов исследование маркеров повреждения нефрона, ангиогенных, фиброгенных факторов, маркёров воспаления в моче как до коррекции рефлюкса, так и после показало, что содержание TGF- β 1 было выше, чем в группе сравнения ($p < 0,03$), а изменений концентрации MCP-1 в моче диагностировано не было. В этой группе больных выявлено исходное повышение уровня VEGF в моче по отношению к группе сравнения (см. табл. 1). Следует отметить, что у пациентов 2-й группы в моче

также исходно наблюдалось увеличение содержания π -GST и коллагена IV типа. Таким образом, указанные патологические сдвиги имели аналогичный характер с изменениями данных факторов в моче у пациентов 1-й группы, однако во 2-й группе были наиболее значимыми.

У больных 3-й группы при исследовании маркеров повреждения нефрона, факторов воспаления, ангиогенеза и фиброгенеза в моче до лечения зарегистрировано отсутствие изменения количества TGF- β 1 от показателей группы сравнения и значительное повышение в моче уровня MCP-1 ($p < 0,002$). Отсутствие значимых изменений TGF- β 1 в моче указывало на поздние этапы формирования нефросклероза. Высокая концентрация этого фактора в интерстиции, по всей видимости, приводила к повышенной активации макрофагов и тубулярных клеток, в результате чего происходил усиленный синтез MCP-1, поддерживающий процесс фиброгенеза за счет активации фибробластов и миофибробластной трансформации

эпителиальных клеток. Изменение содержания в моче VEGF, π -GST и коллагена IV типа в предоперационном периоде было сходно с изменениями во 2-й группе, однако в 3-й группе концентрации данных маркёров были значительно выше.

Через 6 месяцев после лечения в 1-й группе отмечено увеличение содержания в моче TGF- β 1 и MCP-1 по сравнению с нормой и показателями до лечения (табл. 2). Уровень VEGF в моче у пациентов 1-й группы не отличался от показателей группы сравнения. Концентрация коллагена IV типа и π -GST в моче после устранения рефлюкса в большинство почек достигла показателей нормы. Таким образом, при оценке мочевого уровня биомаркёров повреждения почек у пациентов после проведенного консервативного лечения установлено наличие латентного хронического воспалительного процесса в МВП, несмотря на ликвидированный рефлюкс в большинство почек. В связи с сохраняющимся риском повреждения почек потребовалось дальнейшее динамическое наблюдение этих детей.

Таблица 1

Сравнительный анализ биологических маркёров повреждения почечной паренхимы в моче у пациентов разных групп до лечения (n=80)

Показатель	Группа сравнения (n=20)			1-я группа (n=25)				2-я группа (n=39)					3-я группа (n=16)					
	M	LQ	UQ	M	LQ	UQ	p	M	LQ	UQ	p	p*	M	LQ	UQ	p	p*	p**
TGF- β 1, нг/мл	371,4	328,2	418,8	406,8	378	438	0,01	407	379,2	423	0,03	0,84	423,6	392,4	435	0,21	0,53	0,53
MCP-1, пг/мл	43,75	23,75	63,35	36,4	14,4	56,5	0,08	47,85	22,7	93,08	0,25	0,05	215,6	165,4	373,0	0,002	0,002	0,002
VEGF, пг/мл	56,1	42,6	80,9	411,3	310,1	573,5	0,0001	573,8	335,4	1368	0,0001	0,05	2660	2003	5017	0,002	0,002	0,002
α -GST, мкг/л	0,9	0,65	1,1	0,85	0,51	1,14	0,69	0,67	0,38	1,13	0,17	0,39	0,81	0,57	1,13	0,88	0,81	0,39
π -GST, мкг/л	0,48	0,30	0,68	2,1	1,30	2,76	0,002	4,24	2,76	11,62	0,0001	0,001	35,47	21,7	49,69	0,002	0,002	0,002
Коллаген IV, нг/мл	50,25	59,3	38,6	78,9	68,0	88,9	0,002	160,8	110,6	210,6	0,0001	0,0002	252,5	234,9	293,7	0,002	0,002	0,002

Примечание: M — медиана; LQ — нижний квартиль; UQ — верхний квартиль; p — критерий достоверности различий по отношению к показателям группы сравнения; p* — критерий достоверности различий по отношению к показателям первой группы; p** — критерий достоверности различий по отношению к показателям второй группы.

Таблица 2

Сравнительный анализ биологических маркёров повреждения почечной паренхимы в моче у пациентов разных групп после лечения (n=80)

Показатель	Группа сравнения (n=20)			1-я группа (n=25)				2-я группа (n=39)					3-я группа (n=16)					
	M	LQ	UQ	M	LQ	UQ	p	M	LQ	UQ	p	p*	M	LQ	UQ	p	p*	p**
TGF- β 1, нг/мл	371,4	328,2	418,8	657	606	798	0,0009	729	606	795	0,0009	0,005	801	711	894	0,0009	0,005	0,01
MCP-1, пг/мл	43,75	23,75	63,35	55,4	50,9	78,1	0,01	173,6	137,8	228	0,0001	0,0001	394,7	362,5	469,8	0,0004	0,0004	0,0004
VEGF, пг/мл	56,1	42,6	80,9	49,7	34,1	67,9	0,6	164	129,7	225,4	0,0001	0,0001	801	711	894	0,0004	0,0004	0,0004
α -GST, мкг/л	0,9	0,65	1,1	0,87	1,03	0,71	0,68	0,76	0,37	1,09	0,15	0,19	0,88	0,63	1,11	0,79	0,81	0,65
π -GST, мкг/л	0,48	0,30	0,68	0,62	0,1	1,22	0,184	1,22	0,62	2,7	0,0008	0,005	2,33	0,67	4,28	0,0008	0,01	0,717
Коллаген IV, нг/мл	50,25	59,3	38,6	40,2	32,2	55,2	0,15	99,4	88,3	134,7	0,0008	0,0001	185,2	173,6	202,4	0,0004	0,004	0,004

Примечание: M — медиана; LQ — нижний квартиль; UQ — верхний квартиль; p — критерий достоверности различий по отношению к показателям группы сравнения; p* — критерий достоверности различий по отношению к показателям 1-й группы; p** — критерий достоверности различий по отношению к показателям 2-й группы.

Во 2-й группе пациентов патологические изменения содержания TGF- β 1 и MCP-1 были аналогичны 1-й группе, однако их показатели были значительно выше (см. табл. 2). Вероятно, данный факт свидетельствовал о поддержании формирования клеточных инфильтратов и хронического воспаления с повреждением почечной паренхимы, независимо от успешности ликвидации ПМР, что согласуется с данными исследований отечественных и зарубежных авторов [10]. Увеличение мочевого концентрации MCP-1, по-видимому, было связано с его достаточным накоплением в межклеточном пространстве и высоким содержанием в тубулоэпителиальных клетках. Снижение уровня VEGF ($p < 0,00001$) в моче после лечения по сравнению с исходными данными независимо от успешности ликвидации рефлюкса могло быть доказательством как улучшения почечной гемодинамики, так и нарушения его рецепции эндотелием сосудов в условиях длительной тканевой гипоксии. Снижение количества коллагена IV типа ($p < 0,00006$) и π -GST ($p < 0,002$) в моче относительно показателей до лечения, возможно, было связано с ликвидацией рефлюкса в большинстве почек и соответственно уменьшением числа нефронов в состоянии гиперfiltrации и количества повреждённых эпителиальных клеток дистальных канальцев.

Через 6 месяцев после реимплантации мочеточников в 3-й группе отмечено возрастание содержания в моче MCP-1 и TGF- β 1 по отношению к группе сравнения и данным до лечения (см. табл. 2). Концентрация VEGF уменьшилась по сравнению с исходными показателями ($p < 0,002$), но оставалась выше, чем в группе сравнения. Количество π -GST снизилось в 15 раз относительно значений до лечения ($p < 0,002$), но было выше нормальных значений. Уровень коллагена IV типа снизился по сравнению с исходными значениями ($p < 0,002$) и показателями нормы ($p < 0,0004$). Достоверно значимых изменений содержания α -GST у пациентов всех групп в динамике течения патологии диагностировано не было.

Исследование мочевого уровня биологических факторов повреждения почечной паренхимы у пациентов после эндоскопической коррекции рефлюкса и реимплантации мочеточников, на наш взгляд, позволило установить наличие латентного хронического воспалительного процесса в МВП, несмотря на ликвидированный рефлюкс в большинство почек и продолжающееся повреждение почечной паренхимы.

Таким образом, впервые было проведено комплексное исследование в моче биомаркеров воспаления, фиброгенеза, ангиогенеза, нарушения структуры основных элементов нефрона, которое показало чёткую взаимосвязь между мочевым уровнем факторов повреждения почечной паренхимы и длительностью существования ПМР, а также его степенью. Максимальное увеличение в моче концентрации данных маркеров установлено у пациентов, которым выполнялась реимплантация мочеточников, причем следует заметить, что большинство из этих детей перенесли ранее неоднократные эндоскопические коррекции рефлюкса. Кроме того, даже на фоне восстановленной уродинамики у детей 3-й группы содержание биомаркеров в моче оставалось повышенными, что указывало на выраженные и, возможно, необратимые изменения в почках.

Для уточнения чувствительности и эффективности определения различных биологических маркеров повреждения почечной паренхимы в диагностике нефросклеротического процесса у детей на фоне

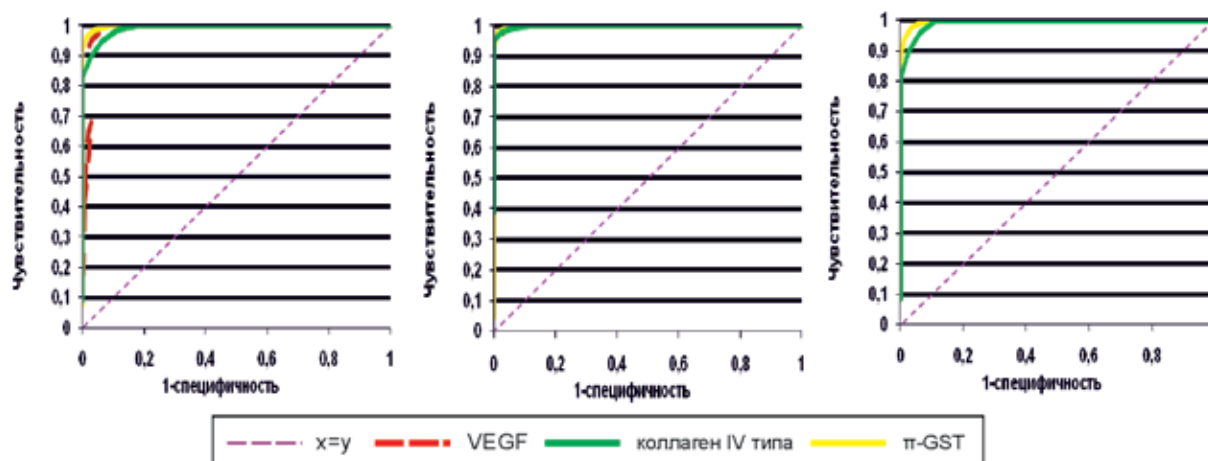
ПМР проведен сравнительный анализ результатов стандартного комплекса клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования и изменений уровня биомаркеров повреждения почек в моче в динамике течения заболевания.

Изменения содержания маркеров воспаления, ангиогенеза, фиброгенеза, повреждения основных структур нефрона в моче регистрировались на самых ранних этапах нефросклеротического процесса, до того как стандартные методы определения структурно-функционального состояния почек дали возможность диагностировать выраженные дефекты структуры паренхимы. Кроме того, у пациентов 1-й группы в динамике течения заболевания в большинстве почек мы наблюдали отсутствие патологических сдвигов по результатам всех методов стандартного комплекса обследования, кроме ультразвукового, а также нормализацию содержания в моче ангиогенных факторов и маркеров повреждения гломерулярного фильтра после проведенного комплексного лечения. Таким образом, исходно выявленные изменения были умеренно выраженными. Однако повышенные уровни маркеров воспаления и фиброгенеза после успешного лечения побудили нас к дальнейшему наблюдению за этой группой пациентов.

По данным клинико-лабораторных и инструментальных методов обследования были зарегистрированы нарушения в половине почек 2-й группы и большинстве почек 3-й группы. Изменения же содержания маркеров повреждения почечной паренхимы в моче установлены у всех пациентов до лечения и сохранялись после лечения, независимо от успешности устранения рефлюкса. Это позволило нам считать повреждение почек при ретроградном забросе мочи тяжелым и, возможно, необратимым.

Важным было сопоставление результатов морфологического исследования дистальных отделов мочеточников, полученных интраоперационно после реимплантации мочеточников и почек после нефрэктомии по поводу их вторичного сморщивания с данными исследования биологических маркеров воспаления, фиброгенеза, ангиогенеза в моче. Впервые установлена взаимосвязь морфологических изменений в почках и в дистальных отделах мочеточников с изменениями мочевого уровня факторов повреждения почечной паренхимы. Так, диффузный тонковолокнистый, периваскулярный склероз с усилением к капсуле и лоханке сопровождался значительным возрастанием мочевого концентрации коллагена IV и π -GST. Наличие выраженного лимфоидного инфильтрата в биоптатах почек сочеталось с высоким уровнем MCP-1 в моче, тогда как в биоптатах мочеточников воспалительный процесс был слабо выражен. Кроме того, отмеченное в большинстве биоптатов мочеточников выраженное уменьшение количества сосудов соответствовало повышению содержания VEGF в моче. Установленный факт объяснили непосредственно почечным происхождением VEGF, который синтезируется подоцитами и отвечает за ремоделирование почечного кровотока. Значительное уменьшение количества сосудов в дистальных отделах мочеточника, вероятно, было обусловлено не только пороком развития данного сегмента, но и патологическим действием вводимого импланта. По-видимому, препарат усугублял нарушение трофики тканей в этой области, с постепенным склерозированием мышечных волокон.

Для оценки диагностической эффективности исследования биологических маркеров повреждения



ROC-кривые, отражающие диагностическую эффективность определения VEGF, коллагена IV типа, T-GST для оценки раннего повреждения почечной паренхимы. Пунктирная линия — восходящая диагональ, площадь под кривой (AUC) 0,5, что объясняет результат, который не больше ожидаемой случайной выборки. Кривые отражают различия между содержанием VEGF, коллагена IV типа, T-GST в 1, 2, 3-й группах и в группе сравнения (AUC — 1,0; 0,99; 1,0 соответственно)

основных элементов нефрона, воспаления, фиброгенеза, ангиогенеза в моче был проведен ROC-анализ с построением характеристических кривых при разных точках разделения значений показателей

При проведении ROC-анализа нами установлено, что наибольшей чувствительностью и специфичностью для регистрации раннего повреждения почечной паренхимы у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом обладали: васкулоэндотелиальный фактор роста — VEGF, а также маркеры повреждения базальной мембраны клубочков почек — коллаген IV типа и эпителиальных клеток дистальных канальцев — T-GST в моче.

Для всех указанных показателей площадь под характеристической кривой (AUC) составила от 0,9 до 1,0, что свидетельствовало о высокой чувствительности и специфичности для мониторинга течения нефросклеротического процесса. Кроме того, полученные данные подтверждали их важное значение в ранней диагностике и прогнозировании раннего повреждения почек у детей на фоне рефлюкса (рисунки).

Учитывая, что с точки зрения основных закономерностей развития нефросклеротического процесса имеют значение не абсолютные уровни биомаркеров повреждения паренхимы почек, а баланс между основными фракциями, определяющими направленность течения патологии, был впервые предложен «индекс раннего повреждения почек» (ИРПП). ИРПП рассчитывался как соотношение концентраций фактора ангиогенеза VEGF, показавшего высокую значимость тканевой гипоксии в инициации и прогрессировании нефросклероза, и коллагена IV типа, отражающего по-

вреждение гломерулярного фильтра, и выражался в условных единицах. Анализ изменения ИРПП у больных с ПМР показал, что исходно зарегистрировано его резкое увеличение в моче во всех группах пациентов по отношению к группе сравнения.

В моче у пациентов 2-й группы значения ИРПП были достоверно выше аналогичных показателей в 1-й группе, однако наиболее высокие показатели ИРПП наблюдались в 3-й группе по сравнению с 1 и 2-й группами (табл. 3). Упомянутые патологические сдвиги ИРПП у детей указывали на повреждение почечной паренхимы в условиях тканевой гипоксии даже при малой степени рефлюкса и кратковременном периоде его существования.

Через 6 месяцев после лечения было отмечено снижение ИРПП также во всех группах пациентов, причем в 1-й группе до значений группы сравнения, а во 2 и 3-й группах выше, чем в группе сравнения, но ниже исходных. Это позволило нам считать изменения в почках в группе пациентов с консервативным лечением рефлюкса незначительными и обратимыми. Во 2 и 3-й группах пациентов выявленные патологические сдвиги, возможно, указывали на истощение компенсаторных возможностей сосудов почек к восстановлению, продолжающееся грубое повреждение почечной паренхимы, независимо от успешности ликвидации рефлюкса, и, вероятно, на необратимость нефросклеротического процесса.

Обсуждение. Установленные изменения биомаркеров воспаления, фиброгенеза, ангиогенеза в моче в динамике течения заболевания свидетельствовали

Таблица 3

Изменение ИРПП у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом в динамике течения патологии

Группы больных	Индекс раннего повреждения почек								p*	
	до лечения				после лечения					
	M	LQ	UQ	P	M	LQ	UQ	p		
Сравнения	1,35	0,8	1,8	-						
1-я	4,6	4,0	5,0	0,000293	1,55	1,05	2,0	0,316509	0,000293	
2-я	6,0	4,5	9,5	0,000089	1,7	1,3	2,0	0,046373	0,000060	
3-я	10,0	8,0	16,0	0,002218	2,4	2,0	3,0	0,000655	0,002218	

Примечание: M — медиана; LQ — нижний квартиль; UQ — верхний квартиль; p — критерий достоверности различий по отношению к показателям группы сравнения; p* — критерий достоверности различий по отношению к показателям до лечения.

о повреждении почечной паренхимы даже при малой степени ПМР. Изменения указанных маркеров в моче отмечались на самых ранних этапах нефросклеротического процесса, до того как стандартные методы определения структурно-функционального состояния почек позволяли диагностировать грубые нарушения [3, 4].

Индекс раннего повреждения почек дал возможность четко разграничить пациентов с начальными и поздними этапами нефросклеротического процесса, а также определить обратимость выявленных изменений в почках на фоне ПМР. Кроме того, указанный индекс отражал дисбаланс между факторами ангиогенеза и маркерами повреждения почечной паренхимы, более выраженный в условиях длительного нарушения уродинамики.

Проведенный многофакторный логистический регрессионный анализ позволил создать модель прогнозирования вероятности раннего повреждения почечной паренхимы у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом в зависимости от уровня ИРПП. Установлена ведущая роль исходного уровня данного индекса в прогнозе развития раннего повреждения почечной паренхимы. Использование метода регрессионного анализа позволило получить новые критерии вероятности развития раннего повреждения почек и обосновать дополнения в стандартный комплекс лечебно-диагностических мероприятий.

Заключение.

1. Рефлюксную нефропатию отражают диспропорция и отсутствие роста почки, нарушение гемодинамики, в меньшей степени — снижение секреторной функции. Выраженность патологических изменений коррелирует со степенью и длительностью существования ПМР.

2. Уровень маркера воспаления MCP-1 повышается с увеличением степени и длительности существования ПМР, отражая интенсивность лимфоцитарной инфильтрации почечной паренхимы. Несмотря на проводимое лечение вне зависимости от метода, повышенная концентрация MCP-1 в моче сохраняется на протяжении шести месяцев. Содержание маркера фиброгенеза TGF- β 1 возрастает в дебюте заболевания, потенцируя нефросклероз, и сохраняется повышенным в динамике заболевания.

3. С увеличением степени ПМР уровень маркеров ангиогенеза VEGF и повреждения основных структур повреждения нефронов (т-GST, коллаген IV типа) возрастает, возвращаясь к нормальным значениям после консервативного лечения, и остаётся повышенным после эндоскопического и оперативного лечения.

4. Характер патологических сдвигов биологических маркеров повреждения почечной паренхимы имеет достоверную взаимосвязь со структурно-функциональными изменениями почек, выявленными в ходе традиционного обследования. Повышение уровней биомаркеров в моче позволяет диагностировать ранние этапы формирования нефросклероза и латентную фазу хронического воспалительного процесса в мочевыводящих путях.

5. Наиболее высокую чувствительность и специфичность для определения степени повреждения паренхимы почек у детей в динамике течения патологии имеет исследование в моче основных маркеров повреждения нефрона — коллагена IV типа и т-GST, а также факторов ангиогенеза — VEGF. Расчет индекса раннего повреждения почек до и через 6 месяцев после лечения позволяет объективно оценить этапность развития нефросклероза.

6. Результаты проведенного исследования позволяют рекомендовать расчет индекса раннего по-

вреждения почек в педиатрической практике с целью своевременного контроля за состоянием почечной паренхимы и прогнозирования раннего повреждения почек у детей на фоне данной патологии.

Конфликт интересов. Исследование выполнено при поддержке гранта Президента МД-303.2010.7.

Библиографический список

1. Борисова Т.П., Багдасарова И.В. Инфекция мочевой системы у детей. Ч. 1: Причины, механизмы развития, клинические проявления // Здоровье ребёнка. 2007. № 3 (6). (Клинические лекции).
2. Cytokines in urine in elderly subjects with acute cystitis and asymptomatic bacteriuria / N. Rodhe, S. Lfgren, J. Strindhall [et al.] // Scand. J. Prim. Health. Care. 2009. Vol. 27 (2). P. 74–79.
3. Врублевский С. Г. Диагностика и тактика лечения детей с расширением чашечно-лоханочной системы // Вопросы практической педиатрии. 2008. Т. 3, № 3. С. 35–39.
4. Вялкова А.А. Хроническая болезнь почек в педиатрической нефрологии // Актуальные проблемы детской нефрологии: матер. Междунар. школы и науч.-практ. конф. по детской нефрологии. Оренбург? 2010. С. 63–75.
5. Maharaj A. S. R., D'Amore P.A. Roles for vegf in the adult // Microvasc. Res. 2007. Vol. 74. P. 100–113.
6. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) is a marker of active renal vasculitis / P.W. K. Tam, J. S. Saunders, A. George [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. 2004. Vol. 19. P. 2761–2768.
7. Caleb P. Nelson. The Outcome of Surgery versus Medical Management in the Treatment of Vesicoureteral Reflux // Advances in Urology. 2008. Vol. Article ID 437560. P. 5–6.
8. Клиническое значение определения в моче маркеров эндотелиальной дисфункции и факторов ангиогенеза в оценке тубулоинтерстициального фиброза при хроническом гломерулонефрите / И. Н. Бобкова [и др.] // Терапевтический архив. 2007. № 6. С. 10–15. Нефрология. 2006. Т. 4, № 10. С. 49–55.
9. Risk factors for chronic kidney disease in Japan: a communitybased study / N. Takamatsu, H. Abe, T. Tominaga [et al.] // BMC Nephrol. 2009. Vol. 10. P. 34–44.
10. Sean Eardley K., Cockwell P. Macrophages and progressive tubulointerstitial disease // Kidney Int. 2005. Vol. 68. P. 437–455.

Translit

1. Borisova T.P., Bagdasarova I.V. Infekcija mochevoje sistemy u detej. Ch. 1: Prichiny, mehanizmy razvitiya, klinicheskie projavleniya // Zdorov'e rebjonka. 2007. № 3 (6). (Klinicheskie lekicii).
2. Cytokines in urine in elderly subjects with acute cystitis and asymptomatic bacteriuria / N. Rodhe, S. Lfgren, J. Strindhall [et al.] // Scand. J. Prim. Health. Care. 2009. Vol. 27 (2). P. 74–79.
3. Vrublevskij S.G. Diagnostika i taktika lechenija detej s rasshireniem chashechno-lohanocnoj sistemy // Voprosy prakticheskoj pediatrii. 2008. T. 3, № 3. S. 35–39.
4. Vjal'kova A.A. Hronicheskaja bolezn' pochek v pediatricheskoj nefrologii // Aktual'nye problemy detskoj nefrologii: mater. Mezhdunar. shkoly i nauch.-prakt. konf. po detskoj nefrologii. Orenburg? 2010. S. 63–75.
5. Maharaj A. S. R., D'Amore P.A. Roles for vegf in the adult // Microvasc. Res. 2007. Vol. 74. P. 100–113.
6. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) is a marker of active renal vasculitis / P.W. K. Tam, J. S. Saunders, A. George [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. 2004. Vol. 19. P. 2761–2768.
7. Caleb P. Nelson. The Outcome of Surgery versus Medical Management in the Treatment of Vesicoureteral Reflux // Advances in Urology. 2008. Vol. Article ID 437560. P. 5–6.
8. Klinicheskoe znachenie opredelenija v moche markjorov jendotelial'noj disfunkcii i faktorov angiogeneza v ocenke tubulointersticijal'nogo fibroza pri hronicheskom glomerulonefrite / I. N. Bobkova [i dr.] // Terapevticheskij arhiv. 2007. № 6. S. 10–15. Nefrologija. 2006. T. 4, № 10. S. 49–55.
9. Risk factors for chronic kidney disease in Japan: a communitybased study / N. Takamatsu, H. Abe, T. Tominaga [et al.] // BMC Nephrol. 2009. Vol. 10. P. 34–44.
10. Sean Eardley K., Cockwell P. Macrophages and progressive tubulointerstitial disease // Kidney Int. 2005. Vol. 68. P. 437–455.