© Н.М.Зайкова, В.В.Длин, Л.А.Синицына, А.В.Еремеева, Н.Е.Ревенко, А.А.Корсунский, Ю.В.Юдина, 2018
УДК [616.61-002.27-053.2] : 577.156 + 616.61-002.17
Для цитирования: Зайкова НМ, Длин ВВ, Синицына ЛА, Еремеева НЕ и др. Маркеры коллагенообразования и склерозирования в диагностике прогрессирования рефлюкс-нефропатии у детей. Нефрология 2018; 22 (3): 33-42
DOI:10.24884/1561-6274-2018-22-3-33-42
For citation: Zaicova NM, Dlin VV, Sinitcina LV, Eremeeva AV et al. Markers of collagenopathy and sclerosis in the diagnosis of the progression of reflux nephropathy in children. Nephrology (Saint-Petersburg) 2018; 22 (3): 33-42 (In Russ.)
DOI:10.24884/1561-6274-2018-22-3-33-42

Н.М. Зайкова[1,3,], В.В. Длин[2], Л.А. Синицына[3], А.В. Еремеева[1], Н.Е. Ревенко[3], А.А. Корсунский[1], Ю.В. Юдина[1]*

МАРКЕРЫ КОЛЛАГЕНООБРАЗОВАНИЯ И СКЛЕРОЗИРОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ РЕФЛЮКС-НЕФРОПАТИИ У ДЕТЕЙ

[1] Кафедра педиатрии и инфекционных болезней Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, Россия; [2]Научно-исследовательский клинический институт педиатрии им. акад. Ю.Е. Вельтищева РНИМУ им. Н.И. Пирогова, Россия; [3]Институт Матери и Ребенка, г.Кишинев, Молдова

N.M. Zaicova[1,3], V.V. Dlin[2], A.V. Eremeeva[1], L.V. Sinitcina[3], N.E. Revenco[3], A.A. Korsunskii[1], U.V. Uidina[1]

MARKERS COLLAGENOPATHY AND SCLEROSIS IN THE DIAGNOSIS OF THE PROGRESSION OF REFLUX NEPHROPATHY IN CHILDREN

[1]Department of Pediatrics and Communicable Diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russia; [2]Pirogov Russian National Research Medical University, Russia; [3]Institution of Mother and Child Care, Kishinev, Moldova

РЕФЕРАТ
ЦЕЛЬ. Выявить информативные показатели для прогнозирования прогрессирования рефлюкс-нефропатии у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом на основании исследования мочевой экскреции маркеров склерозирования (трансформирующего фактора роста-β_1), ангиотензина II, прокальцитонина, β_2-микроглобулина) и коллагенообразования (пептид-связанного и свободного гидроксипролина). *ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.* В группу исследования были включены 71 (52 девочки) пациент в возрасте 5,69±0,44 года с пузырно-мочеточниковым рефлюксом (ПМР). С учетом результатов ДМСА-сцинтиграфии все дети были распределены на 2 группы: группа сравнения – 9 детей с ПМР без очагов склероза и основная группа – 62 пациента с различной степенью рефлюкс-нефропатии (РН). Контрольную группу составили 20 практически здоровых детей в возрасте 6.24 ± 0.31 года. У всех детей исследовали мочевую экскрецию AngII, TGF-β_1, ПКТ, β_2-МГ, ПСО и СВО и пересчитывали ее на уровень креатинина в моче. *РЕЗУЛЬТАТЫ*. Мочевой уровень AngII, TGF-β_1, ПКТ, β_2-МГ, ПСО и СВО был достоверно выше в группах детей с РН при сравнении с группой контроля. Наиболее высокий уровень Ang II, TGF-β_1, ПКТ был определен в основной группе ($p<0,05$). У больных с тяжелой степенью РН уровень AngII, TGF-β_1, ПКТ в моче был в 2 раза выше при сравнении с контрольной группой и группой детей без очагов склероза ($p<0,05$). *ЗАКЛЮЧЕНИЕ*. Установленная прямая корреляционная связь между уровнем экскреции AngII, TGF-β_1, ПКТ и степенью тяжести РН у больных с ПМР свидетельствует о целесообразности и перспективности их включения в качестве диагностических маркеров прогнозирования тяжести рефлюкс-нефропатии.

Ключевые слова: пузырно-мочеточниковый рефлюкс, рефлюкс-нефропатия, маркеры склерозирования, маркеры коллагенообразования, дети

ABSTRACT
THE AIM. To reveal the informative indicators for the prediction of progression of reflux nephropathy in children with vesicoureteral reflux based on the study of the urinary excretion of markers of sclerosis (transforming growth factor-β1), angiotensin II, procalcitonin, β2-microglobulin) and collagenopathy (peptidoglycans and free hydroxyproline). *PATIENTS AND METHODS:* the study group included 71 (52 girls) the patient at the age of 5.69±0.44 years with vesicoureteral reflux (VUR). Based on the results of DMSA-scintigraphy, all children were divided into 2 groups: the control group 9 children with VUR without foci of sclerosis and a study group included 62 patients with different degrees of reflux nephropathy (RN). The control group consisted of 20 healthy children at the age of 6.24 ± 0.31 years. In all children investigated the urinary excretion of AngII, TGF-β1, PCT, β2-MG, PSH and FH and counted it to the level of creatinine in the urine. *RESULTS*. Urinary levels of AngII, TGF-β1, PCT, β2-MG, PSH, and FH was significantly higher in groups of children with RN when compared with the control group. The highest level AngII, TGF-β1, PCT was defined in the main group ($p<0.05$). Patients with a severe degree of RN, the

* Зайкова Н.М. Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Кафедра педиатрии и инфекционных болезней педиатрического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва; Институт Матери и Ребенка, г.Кишинев, Молдова. Тел: 8-964-529-90-49, nataliazaikova@mail.ru

level of AngII, TGF-β1, PCT in urine was higher when compared with the control group and the group of children without foci of sclerosis (p<0.05). *CONCLUSION.* Installed direct correlation between the level of excretion AngII, TGF-β1, PCT and the severity of RN in patients with VUR indicates the feasibility and prospects of their inclusion as diagnostic markers predict the severity of reflux nephropathy.

Keywords: vesicoureteral reflux, reflux nephropathy, markers of sclerosis, markers of collagenopathy, children

ВВЕДЕНИЕ

Инфекция мочевой системы у детей особенно в сочетании с пузырно-мочеточниковым рефлюксом (ПМР) приводит к развитию рефлюкс-нефропатии (РН) [1–3]. При прогрессировании РН появляются протеинурия, артериальная гипертензия, постепенное снижение функции почек, вплоть до развития терминальной почечной недостаточности (тПН). Среди всех детей с тПН в 8–25% случаев причиной явилась прогрессирующая РН [4–7]. Поэтому главная цель современной нефрологии – максимальное продление собственных функций почек, что особенно актуально при РН. Следовательно, главный акцент должен быть перенесен на раннюю диагностику и предупреждение развития почечных рубцов [8, 9].

Поиск так называемых биомаркеров острого и хронического почечного повреждения, позволяющих проводить раннее выявление патологических изменений в почках и определять их характер, дифференцировать поражение разных отделов нефрона, точно установить стадию процесса, оценить выраженность воспаления и интенсивность фиброгенеза является наиболее важным [10–12]. Среди таких маркеров, которые все более активно исследуются, наибольшее значение имеют трансформирующий фактор роста (TGF-β_1), интерлейкин-6,8,10, KIM-1 (kidney injury molecule -1), VEGF-A (vascular endothelial growth factor – A), L-FABP (liver type fatty-acid binding protein), NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) и др. [10]. В то же время, в литературе недостаточно освещен вопрос о роли ангиотензина II (AngII) и маркеров коллагенообразования (пептидосвязанного и свободного гидроксипролина) в патогенезе РН и не определена их роль в прогрессировании почечного повреждения, что и послужило целью нашего исследования [8, 14, 15]. Являясь основным профиброгенным фактором, инициирующим и поддерживающим процессы фибриллогенеза, AngII повышает синтез TGF-β_1, который стимулирует пролиферацию клеток и образование соединительной ткани [16, 17]. При заболеваниях, связанных с поражением соединительной ткани, увеличивается экскреция гидроксипролина вследствие ускоренного распада и синтеза коллагена. В результате распада, биосинтеза коллагена в крови и моче появляется свободный гидроксипролин (СВО). Большая часть этой аминокислоты катаболизируется под действием фермента гидроксипролиноксидазы, а часть её выводится с мочой, и поэтому гидроксипролин является маркерной аминокислотой, по которой судят о скорости распада и биосинтеза коллагена. Дефекты синтеза коллагена приводят к уменьшению поперечных связей в фибриллах и возрастанию числа легкорастворимых фракций оксипролина, таких как пептид-связанной [18].

Цель исследования: выявить информативные показатели для прогнозирования прогрессирования рефлюкс-нефропатии у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом на основании исследования мочевой экскреции маркеров склерозирования трансформирующего фактора роста-β_1, ангиотензина II, β_2-микроглобулина, прокальцитонина и маркеров коллагенообразования (пептид-связанного и свободного оксипролина).

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 71 пациент с различной степенью ПМР в возрасте от 1 года до 14 лет (средний возраст 5,69±0,44 года), из них 52 девочки (73,2%), которые находились на обследовании в отделениях нефрологии и урологии Института Матери и Ребенка (г. Кишинев).

Всем больным было проведено комплексное обследование, которое включало ультразвуковое исследования органов мочевой системы, УЗИ-допплер почек, микционную цистографию, экскреторную урографию и динамическую нефросцинтиграфию, клинические анализы крови и мочи, определялись уровень мочевины и креатинина в крови, скорость клубочковой фильтрации по формуле Шварца, изучалась концентрационная функция почек в пробе Зимницкого и проводилось бактериологическое исследование мочи.

Степень ПМР оценивали по результатам микционной цистографии согласно принятой в 1985 г. Международной классификации ПМР [19].

Для выявления РН и определения ее степени всем детям с ПМР была проведена статическая нефросцинтиграфия с ДМСА (димеркаптосукциновая кислота) в отделении ядерной медицины (зав. отделения – В.В. Карецкая) Республикан-

ской клинической больницы (г. Кишинев), но не ранее чем через 3 мес после последнего эпизода инфекции мочевой системы. Степень рефлюкс-нефропатии определялась согласно классификации A. Piepsz и соавт. (2001): 1 ст. – 1–2 рубца, 2 ст. – 2–3 рубца с сохранной почечной паренхимой, 3 ст. – очагово-диффузное распространение склеротических очагов с сохраненным почечным контуром, 4 ст. – «маленькая» или атрофированная почка [20].

В зависимости от наличия и степени выраженности РН дети были разделены на 3 группы: основная группа (1-я группа) – 62 (87,3%) пациента с различной степенью РН: 1А подгруппа – 41 (66,1%) пациент с 1–2 степенью РН (легкая, средний возраст 6,17±0,55 года, 7м/34д) и 1Б подгруппа – 21 (33,9%) пациент с 3–4 степенью РН (тяжелая, средний возраст 6,43±0,86 года, 11м/10д), группа сравнения (2-я группа) – дети с ПМР без РН – 9 (12,7%) детей (средний возраст 1,78±0,36 года, 1м/8д) у которых, по данным ДМСА-сцинтиграфии, отсутствовали очаги склероза. Контрольную группу (3-я группа) составили 20 практически здоровых детей (8м/12д, средний возраст 6,24±0,31 года) без почечной патологии в анамнезе и на момент включения в исследование.

В утренней моче определяли уровни ангиотензина II (AngII), трансформирующего фактора роста (TGF-β_1) и β_2-микроглобулина (β_2-МГ) на биохимическом анализаторе «Униплан» (США) методом иммуноферментного анализа ELISA с использованием наборов фирмы «Human TGF-beta-1 Quantikine ELISA Kit» и «Human Angiotensin II Quantikine ELISA Kit» (Великобритания), «Tinaquant a beta 2-microglobulin» (фирма «Boehring Mannhaim»), уровень прокальцитонина (ПКТ) – иммунохроматографическим методом Brachms PCT-Q. Уровень пептид-связанного оксипролина (ПСО) и свободного оксипролина (СВО) в моче определяли по методу П.Н. Шараева (1996). Метод основан на оценке плотности красного хромогена, получаемого в результате окисления и декарбоксилирования молекулы оксипролина и конденсации продукта окисления с парадиметиламинобензальдегидом в биохимической лаборатории (зав. лабораторией – проф. В. Гудумак) Государственного медицинского университета «Н. Тестимицану» (г. Кишинев). Уровни изучаемых маркеров в моче пересчитывали на содержание креатинина в данной порции мочи (нг/ммоль креатинина). Все дети на момент исследования находились в клинико-лабораторной ремиссии инфекции мочевой системы (пиелонефрита).

Для оценки результатов исследования использовали пакет прикладных статистических программ «Statistica 6.0» («StatSoft», США). Данные представлены как частоты и проценты для категориальных и среднего арифметического ± стандартное отклонение для непрерывных показателей. Статистическую значимость различий средних по одному признаку оценивали по критерию Манна–Уитни, при сравнительном анализе трех групп и более использовался ранговый анализ вариаций по Краскелу–Уоллису; частот – χ^2-критерия Пирсона. Оценку силы взаимосвязи между количественными признаками проводили с помощью коэффициента корреляции (Rs) Спирмена. Нулевую статистическую гипотезу об отсутствии различий и связей отвергали при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По данным обследования ПМР I степени выявлялся у 17 детей (23,9%), ПМР II степени – у 15 детей (21,1%), ПМР III степени – у 14 (19,7%), ПМР IV степени – у 25 детей (35,3%). Односторонний ПМР был установлен у 39 детей (54,9%), двусторонний – у 32 (45,1%) ($\chi^2=1,97$, $p>0,05$). Изучаемые группы больных достоверно не отличались по возрасту и полу. Из анализа цистографий выяснилось, что у 25 больных (35,2%) преобладает левосторонний ПМР, у 14 пациентов (19,7%) – правосторонний, в 45,1% случаев был диагностирован двусторонний ПМР.

По данным ДМСА-сцинтиграфии, РН была выявлена у 62 (87,3%) пациентов, детей без очагов склерозирования было 9 (12,7%).

Тяжелая степень РН определялась в 28,6% случаев при I–II степени ПМР и в 71,4% случаев при III–IV степени ПМР ($\chi^2=3,34$, $p>0,05$). Среди обследованных детей тяжелая степень РН определялась в основном у мальчиков (52,4%, $\chi^2=10,2$, $p<0,05$).

Установлено, что все дети с ПМР и РН имеют высокий уровень изучаемых маркеров по сравнению с группой контроля (табл. 1). Более высокие показатели изучаемых цитокинов были у детей 1Б группы по сравнению с 1А группой и группой сравнения. Выявлена повышенная мочевая концентрация TGF-β и AngII в среднем в 2,1 – 3 раза у детей основной группы по сравнению с контрольной группой и достоверно выше, чем в группе больных без признаков РН ($p<0,001$, $p<0,05$, см. табл. 1).

Установлено, что у всех детей с ПМР независимо от наличия и степени почечного повреждения мочевой уровень β_2-МГ был достоверно выше по

сравнению с контрольной группой (p<0,05). У пациентов 1А группы мочевой уровень β_2-МГ был ниже, чем у лиц 1Б группы (p>0,05). Уровень β_2-МГ был достоверно выше у детей основной группы, чем у пациентов группы сравнения (p<0,05).

Уровень СВО в моче был выше в 1,3 раза у детей 1Б группы по сравнению с 1А группой и группой сравнения (p<0,05). Повышенный уровень СВО выявлялся у 41 пациента основной группы (67,8%), в том числе у 29 пациентов 1А группы (70,73%) и у 12 пациентов 1Б группы (57,14%, p<0,05). Средний уровень СВО более 82,9 нг/ммоль Cr (M ± 2δ) встречался у 3 (33,3%) детей без признаков РН (χ^2=11,241, p=0,004). Можно предположить, что у этих пациентов уже имеются мелкие очаги склероза в паренхиме почек, которые подвергаются усиленному лизису, что и выражается в повышении уровня СВО в моче, но пока еще не выявляются на ДМСА-сцинтиграфии.

Уровень экскреции ПСО с мочой в основной группе был выше, чем в группе контроля, особенно у детей с легкой степенью РН – в 2,8 раза (p<0,05). Не выявлено достоверных различий уровня экскреции ПСО с мочой у детей основной группы и группой сравнения (p>0,05).

Выявлена связь между степенью РН и уровнем ПКТ в моче. Так, в основной группе уровень ПКТ был достоверно выше, чем в группе сравнения (p<0,001). Можно предположить, что это связано с наличием и тяжестью повреждения паренхимы почек. Об этом свидетельствует тот факт, что у детей без признаков РН определен достоверно более низкий уровень ПКТ в моче по сравнению с детьми 1А и 1Б группой (p<0,001). У детей 1Б группы уровень ПКТ в моче был выше, чем у детей 1А группы (p>0,05).

Таким образом, у больных основной группы все изучаемые показатели по сравнению с группой сравнения были повышенными. В 1Б группе по сравнению с 1А группой чаще выявлялись высокие мочевые концентрации β_2-МГ (q=0,81 vs 0,61), TGF-β1 (q=0,86 vs 0,71), ПСО (q=0,76 vs

Таблица 1 / Table 1

Мочевая концентрация изучаемых маркеров склерозирования и коллагенообразования у обследованных больных

Urine level of markers of sclerosis and collagenopathy in studied population

Маркеры	Основная группа (N=62) Дети с рефлюкс-нефропатией		2. Группа сравнения (без РН) (n=9)	3. Группа контроля (n=20)
Mean [10–90 procentile]	1А (n=41)	1Б (n=21)		
Трансформирующий фактор роста-β_1 (нг/ммоль Cr) Частота повышенной концентрации – q	185,9 [142,5–282,0] 29 (0,71)	381,7 [227,9–453,2] 18 (0,86)	147,32 [114,4– 189,7] 3 (0,33)	107,5 [94,7– 129,5] 2 (0,1)
β_2-микроглобулин (нг/ммоль Cr) Частота повышенной концентрации – q	22,4 [14,11–29,8] 25 (0,61)	24,31 [11,5–38,1] 17 (0,81)	12,96[10,4–20,4] 2 (0,22)	10,38 [8,5–14,1] 4 (0,2)
Свободный гидроксипролин (нг/ммоль Cr) Частота повышенной концентрации – q	184,2 [88,8–397,8] 29 (0,7)	158,7 [71,5–316,4] 12 (0,57)	118,3 [73,5–220,8] 5 (0,56)	46,5 [32,6–116,5] 6 (0,3)
Пептидосвязанный гидроксипролин (нг/ммоль Cr) Частота повышенной концентрации – q	638,0 [409,4–897,3] 21 (0,51)	537,1 [439,9–827,8] 16 (0,76)	565,3 [331,0–642,9] 2 (0,22)	440,3 [239,5–617,5] 2 (0,1)
Ангиотензин II (нг/ммоль Cr) Частота повышенной концентрации – q	54,4 [45,0– 90,9] 31 (0,76)	143,1 [35,6–171,1] 17 (0,85)	40,8 [24,2–62,1] 4 (0,45)	28,4 [15,2–76,5] 4 (0,2)
Прокальцитонин (нг/ммоль Cr) Частота повышенной концентрации – q	10,5 [15,0–23,9] 26 (0,63)	13,4 [15,6– 51,1] 19 (0,9)	2,56 [1,2–6,1] 1 (0,1)	0,5 [0,1–1,53] 2 (0,1)

U-критерий Манна–Уитни	p*	p_{1-2}	p_{1-3}	p_{2-3}	p_{1-4}	p_{2-4}	p_{3-4}
Трансформирующий фактор роста-β_1 (нг/ммоль Cr)	0,004	0,022	0,05	0,002	0,001	0,001	0,001
β_2-микроглобулин (нг/ммоль Cr)	0,001	0,07	0,05	0,069	0,05	0,001	0,06
Свободный гидроксипролин (нг/ммоль Cr)	0,026	0,054	0,007	0,05	0,007	0,001	0,001
Пептидосвязанный гидроксипролин (нг/ммоль Cr)	0,001	0,053	0,001	0,2	0,05	0,06	0,054
Ангиотензин II (нг/ммоль Cr)	0,001	0,001	0,05	0,044	0,001	0,001	0,05
Прокальцитонин (нг/ммоль Cr)	0,001	0,054	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001

*По критерию Краскела–Уоллиса.

Таблица 2 / Table 2

Чувствительность и специфичность изучаемых маркеров в основной группе (дети с РН) и в группе сравнения (дети без РН)

Sensitivity and specifity of investigated markers in studied group (children with reflux nephropathy) and control group (children without reflux nephropathy)

Маркеры, нг/ммоль Cr	AUC (%)		Оптимальное пороговое значение показателя	Чувствительность (%)		Специфичность (%)	
	Основная группа	Группа сравнения		Основная группа	Группа сравнения	Основная группа	Группа сравнения
TGF-β_1/Cr	79	75,8	172,7	69,4	67,9	76,9	77,6
AngII/Cr	88	79	58,3	77,6	81,3	92,3	94,5
β_2-МГ/Cr	82	76	17,5	69,4	65,7	92,3	88,7
СВО/Cr	74	89	120,5	64,5	71,9	57,9	77,9
ПСО/Cr	83	76	502,3	77,6	51,6	76,9	46,4
ПКТ	96	89	2,4	97,6	95,8	96,9	93,8

0,51), AngII (q=0,85 vs 0,76), ПКТ (q=0,9 vs 0,63), за исключением СВО, повышенная концентрация которого чаще встречалась у пациентов 1А группы (q=0,7 vs 0,57). В группе сравнения, у детей без признаков склерозирования реже отмечались повышенные концентрации изучаемых показателей, в основном это TGF-β_1 (q=0,33), СВО (q=0,56) и AngII (q=0,45).

Установлено минимальное пороговое значение изучаемых показателей для диагностики ранних склеротических изменений у детей с ПМР. Чувствительность и специфичность изучаемых показателей в качестве диагностических маркеров склерозирования представлена в табл. 2.

Было показано, что наибольшая чувствительность и специфичность (97,6 и 96,9% в основной группе) выявлена для ПКТ (уровень 2,4 нг/ммоль Cr); меньше (чувствительность и специфичность 77,6 и 92,3% в основной группе) выявлена для AngII (уровень 58,3 нг/ммоль Cr). Остальные изучаемые показатели имели меньшую специфичность и чувствительность.

При корреляционном анализе установлена наиболее значимая положительная достоверная связь таких маркеров как AngII и TGF-β_1 с выраженностью РН у детей, что свидетельствует о прогностической значимости этих маркеров (табл. 3).

Таблица 3 / Table 3

Корреляционные связи между изучаемыми показателями и выраженностью рефлюкс-нефропатии

Correlation between the investigated variables and the degree of reflux nephropathy

Показатели	R	p
Трансформирующий фактор роста-β_1	0,7	<0,001
β_2-микроглобулин	0,088	0,496
Свободный гидроксипролин	0,055	0,669
Пептидосвязанный гидроксипролин	–0,053	0,683
Ангиотензин II	0,622	<0,001
Прокальцитонин	0,066	0,789

У детей основной группы степень коллагенообразования и микроглобулинурии была более выраженной, чем у детей группы сравнения, что подтверждается установленной умеренной силы положительной корреляционной связью между мочевым уровнем β_2-МГ и показателями коллагенообразования ПСО (рис. 1), а также более выраженная степень склероза в виде сильной прямой корреляции между уровнем AngII и профиброгенным маркером TGF-β_1, и указывает на гиперпродукцию данных цитокинов и усиленную пролиферацию фибробластов с разрастанием соединительной ткани (рис. 2). У детей группы сравнения (дети без признаков РН) процессы склерозирования более интенсивны, чем у детей со склеротическими процессами, что подтверждается выявленной умеренной силы отрицательной корреляционной связи между СВО и AngII (рис. 3) и сильной непрямой корреляционной связью между AngII и ПСО (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение ранних диагностических маркеров формирования и прогрессирования тубулоинтерстициального фиброза, среди которых важное место отводят профиброгенным маркерам, считают перспективным направлением в детской нефрологии. Интерес поиска диагностических маркеров возрос с появлением доступных методов определения уровня цитокинов не только в крови, но и в моче, позволяющих оценить активность и характер течения процесса в почечной ткани. Поскольку проксимальные канальцы, поврежденные ишемией, являются основным источником факторов роста, значительное повышение содержания TGF-β_1 и AngII в моче по мере возрастания тяжести тубулоинтерстициального повреждения

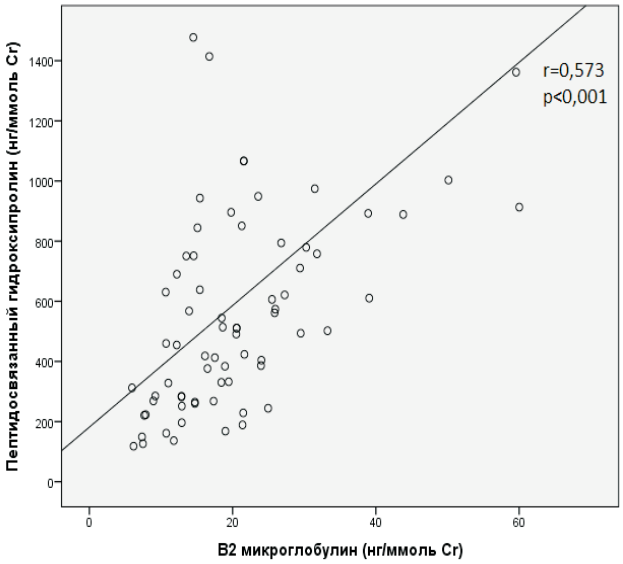

Рис. 1. Корреляционные связи между мочевым уровнем β_2-МГ и показателями коллагенообразования (ПСО) у детей основной группы.

Figure 1. Correlation between urine β_2-microglobulin and collagenopathy markers in children of studied group.

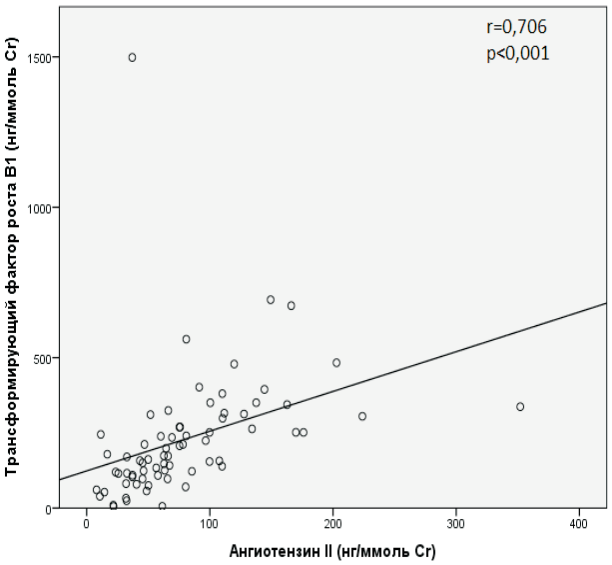

Рис. 2. Корреляционные связи между мочевым уровнем AngII и профиброгенным маркером TGF-β_1 у детей основной группы.

Figure 2. Correlation between urine angiotensin II and profibrogenic marker TGF-β_1 in children of studied group

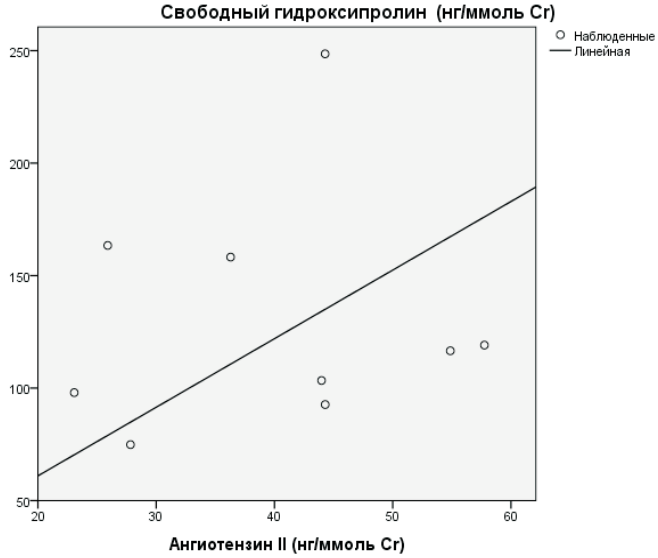

Рис. 3. Корреляционные связи между мочевым уровнем показателями коллагенообразования (СВО) и AngII у детей группы сравнения.

Figure 3. Correlation between urine collagenopathy marker (free hydroxyprolin) and angiotensin II in children of control group

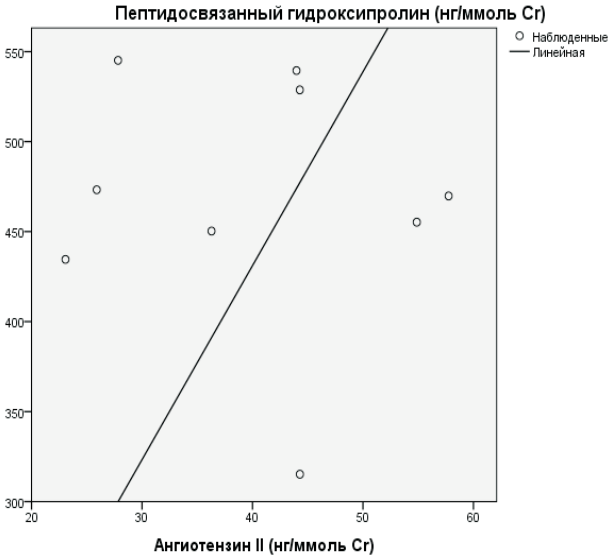

Рис. 4. Корреляционные связи между мочевым уровнем показателями коллагенообразования (ПСО) и AngII у детей группы сравнения.

Figure 4. Correlation between urine collagenopathy marker (protein binding hydroxyproline) and angiotensin II in children of control group

указывает на гиперпродукцию данных цитокинов и усиленную пролиферацию фибробластов с разрастанием соединительной ткани, что подтверждается данными литературы [21–23]. В нашем исследовании повышение уровня AngII и TGF-β_1 у части детей с ПМР без признаков РН возможно обусловлена инфильтрацией почечного интерстиция макрофагами и лимфоцитами в очаге воспаления, что можно расценить как пресклеротическую стадию развития РН. Выявлена прямая сильная корреляционная связь между мочевыми показателями TGF-β_1 и AngII у больных с РН, и именно у этих больных были обнаружены высокие показатели изучаемых маркеров, что может служить дополнительным диагностическим критерием тубулоинтерстициального повреждения и уменьшения нормально функционирующей почечной ткани, что было отмечено и другими авторами. Так,

схожие результаты были получены A. Sabasinsca и соавт. (2008), обнаружившие высокую прямую корреляционную связь между мочевой экскрецией TGF-β_1 у детей с ПМР, тяжестью самого рефлюкса и почечным повреждением [24]. Рядом авторов было отмечено наличие тесной связи между уровнем TGF-β_1 в моче и степенью тяжести повреждения почечной ткани у детей с ПМР, осложненным РН [25].

О значении β_2-МГ, как одного из ранних маркеров повреждения тубулоинтерстициальной ткани, свидетельствуют выявленные средней силы корреляционные связи между мочевым уровнем β_2-МГ и показателями коллагенообразования ПСО ($r=0,578$, $p<0,001$). Повышенный мочевой уровень β_2-МГ у пациентов с тяжелой степенью РН отражает, прежде всего, тяжесть повреждения эпителия проксимальных канальцев, прежде всего, за счет деструкции и нарушения процессов реабсорбции в них. При наличии латентно-текущего интерстициального воспаления повреждения тубулоинтерстиция почечными белками приводит к усилению гипоксии канальцевых клеток с формированием тубулярной атрофии и разрушением в них лизосом [26]. Указанные механизмы поражения канальцевых клеток, по-видимому, имеют место как в начале развития тубулоинтерстициального процесса, так и в последующем, усугубляясь по мере формирования склероза [10, 26–29]. У пациентов с ПМР, осложненным РН, повышенная мочевая экскреция β_2-МГ выявлялась чаще, чем в группе детей с ПМР без РН, что позволяет его предложить в качестве маркера для раннего выявления среди детей с ПМР больных с РН. Полученные данные согласуются с результатами, полученными A. Kaminska и соавт. (2000), которые показали, что повышенный уровень микроглобулинов в моче отражает степень интерстициального повреждения у детей с ПМР [30].

Результаты исследования установили, что у всех больных с тяжелой степенью РН выявлялся выраженный дисбаланс между разрушением сформированного коллагена и его синтезом, что проявлялось высокой мочевой экскрецией СВО и относительно более низкой экскрецией ПСО с мочой. В отличие от этого при легкой степени РН преобладала экскреция ПСО с мочой, а выделение СВО не отличалось от его выделения у детей с ПМР, но без развития РН. Мы предполагаем, что выделяемый с мочой СВО, который является продуктом распада коллагена, может служить показателем интенсивности данного процесса при РН. Это соответствует результатам, представленным в работе K.I. Kivirikko (1970), где было показано, что грануляционно-фиброзная ткань, наряду с усилением биосинтеза коллагена, характеризуется и усиленным его распадом, особенно в стадии окончательной организации рубца [31]. Учитывая, что СВО в моче является чувствительным индикатором как распада коллагена, так и коллагенообразования, он может использоваться в клинической практике для выявления склеротических процессов в почечной ткани у детей с ПМР [32].

Выявлены высокая специфичность и чувствительность мочевой экскреции провоспалительного цитокина ПКТ для мониторирования степени склероза при ПМР. Было показано, что уровень ПКТ в моче зависит от степени почечного повреждения и канальцевой дисфункции. Возможно, при рецидивирующей ИМС у детей с ПМР и РН развивается хронический воспалительный процесс в почках, который приводит к повышенному синтезу эндотоксинов и провоспалительных цитокинов в результате их воздействия на щитовидную железу, что, в свою очередь, приводит к усилению синтеза ПКТ и повышению его уровня в крови. При этом в моче наблюдается повышение уровня ПКТ как за счет фильтрации через гломерулярный фильтр его большего количества, так и за счет нарушения его реабсорбции, обусловленного повреждением проксимальных канальцев нефрона [33]. Наиболее высокий уровень ПКТ в моче наблюдался у детей с III–IV степенями РН и был почти в 6 раз выше, чем у детей без РН. Несмотря на то, что роль ПКТ в воспалительной реакции и цитокиновом каскаде при почечном повреждении остается неизвестной, его использование в диагностике инфекции мочевой системы оценивается различными авторами чрезвычайно высоко [34–39]. S. Leroy и соавт. (2011) определили стабильную зависимость между концентрацией ПКТ в крови и степенью ПМР и предложили использование ПКТ при обследовании больных с ИМС [34]. В то же время, на положительную корреляцию между уровнем ПКТ в крови, острофазовыми показателями и ПМР у 52 детей с острым пиелонефритом отметили S. Bressan и соавт. (2009), но не нашли зависимость его от степени ПМР [39]. Нам представляется, что выявленная связь со степенью РН косвенная, и уровень ПКТ в моче зависит, прежде всего, от тяжести РН и выраженности воспалительного, в том числе и латентно протекающего, процесса в почечной ткани. Наши исследования косвенно согласуются с исследованиями A. Kotoula и соавт. (2009). Авторы определили высокую корреляцию между ПКТ в крови у больных с почечными рубцами при

сравнении с больными без рубцов и предложили использовать его как ранний маркер рубцевания почечной ткани [40].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Суммируя полученные данные, можно предположить, что основной причиной, приводящей к прогрессированию РН у больных детей с ПМР, является повышенная продукция факторов роста в условиях формирующейся РН. Установленная прямая корреляционная связь между уровнем экскреции изучаемых профиброгенных факторов и степенью тяжести РН у больных с ПМР свидетельствует о целесообразности и перспективности их включения в качестве диагностических маркеров прогнозирования тяжести рефлюкс-нефропатии.

Установлена выраженная корреляционная связь мочевого уровня трансформирующего фактора роста-β_1 и ангиотензина II с почечным повреждением, что отражает прогрессирующий воспалительный и склерозирующий тубулоинтерстициальный процесс.

Уровень прокальцитонина в моче был в 3,5 раза выше у детей с РН, чем у детей без повреждения почечной ткани, что позволяет предложить определение этого показателя в качестве неинвазивного диагностического маркера в определении почечного повреждения при наблюдении за детьми с ПМР и инфекцией мочевой системы до проведения ДМСА-сцинтиграфии.

Мочевой уровень β_2-микроглобулина у детей основной группы был почти в 2 раза выше, чем в группе детей без очагов склероза в почечной ткани, и отражает более тяжелое повреждение эпителия проксимальных канальцев.

Установлена зависимость между образованием и разрушением коллагена и степенью тубулоинтерстициального фиброза в виде повышения фракций свободного оксипролина.

Определение в моче уровня ангиотензина II, трансформирующего фактора роста-β_1, прокальцитонина с последующим пересчетом показателей на креатинин мочи целесообразно использовать в качестве дополнительных диагностических критериев формирования и прогрессирования хронического воспалительного процесса в почечной ткани у детей с ПМР. Установленная прямая корреляционная связь между уровнем экскреции AngII, TGF-β_1, ПКТ и степенью тяжести РН у больных с ПМР свидетельствует о целесообразности и перспективности их включения в качестве диагностических маркеров прогнозирования тяжести рефлюкс-нефропатии.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Аничкова ИВ, Папаян АВ. Рефлюкс-нефропатия. *Клиническая нефрология детского возраста.* Левша. Санкт-петербург, СПб., 2008; 452–457 [Anichkova IV, Papayan AV. Reflyuks-nefropatiya. Klinicheskaya nefrologiya detskogo vozrasta SPb.: Levsha. Sankt-peterburg, 2008; 452–457]

2. Папаян АВ, Савенкова НД. *Клиническая нефрология детского возраста.* Левша. Санкт-Петербург, СПб., 2008: 600 [Papayan AV., Savenkova ND. Klinicheskaya nefrologiya detskogo vozrasta SPb.: Levsha. Sankt-peterburg, 2008: 600]

3. Tej K. Mattoo. Vesicoureteral Reflux and Reflux Nephropathy. *Adv Chronic Kidney Dis* 2011; 18(5): 348–354

4. Даминова МА. Хроническая болезнь почек у детей: этиология, классификация и факторы прогрессирования. *Вестник современной клинической медицины* 2016;9(2):36–41 [Daminova MA. Hronicheskaya bolezn pochek u detey: etiologiya, klassifikatsiya i faktoryi progressirovaniya. Vestnik sovremennoy klinicheskoy meditsinyi 2016;9(2):36–41]

5. Giovanni M, Kjell T, Hewitt I. Febrile Urinary Tract Infections in Children. *New Engl J of Medicine* 2011; 365:239–250

6. Мачехина ЛЮ. Современные взгляды на патогенетические механизмы, течение, прогноз и методы лечения рефлюкс-нефропатии. *Автореф. дис. ... канд. мед. наук.* М., 2010: 38 [Machehina LYu. Sovremennyie vzglyadyi na patogeneticheskie mehanizmyi, techenie, prognoz i metodyi lecheniya reflyuks-nefropatii. Avtor. diss. na sosk. uch. step. kand. med. nauk, Moskva, 2010: 38]

7. North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study (NAPRTCS). *Annual report*. 2010. The EMMES Corporation, Rockville, MD.

8. Salo J, Ikäheimo R, Tapiainen T. Childhood urinary tract infections as a cause of chronic kidney disease. *Pediatrics* 2011;128(5):840

9. Massanyi EZ, Preece J, Gupta A et al. Utility of screening ultrasound after first febrile UTI among patients with clinically significant vesicoureteral reflux. *Urology* 2013; 82(4):905–910

10. Liang, X.L. Beyond Early Diagnosis: Prognostic Biomarkers for Monitoring Acute Kidney Injury: X.-L. Liang, W. Shi. *Hong Kong J. Nephrol*. 2010; 12(2):45–49

11. Зорин ИВ, Вялкова АА. Прогнозирование прогрессирования тубуло-интерстициального поражения почек у детей с рефлюкс-нефропатией. *Нефрология* 2015;19(3): 65–71 [Zorin IV, Vyalkova AA. Prognozirovanie progressirovaniya tubulo-interstitsialnogo porazheniya pochek u detey s reflyuks-nefropatiey. Nefrologiya 2015;19(3): 65–71]

12. Чичуга ЕМ, Настаушева ТЛ, Звягина ТГ. Маркеры хронической болезни почек у детей с обструкцией мочевых путей и пузырно-мочеточниковым рефлюксом. *Педиатрическая фармакология* 2015;12 (4): 407–413 [Chichuga EM, Nastausheva TL, Zvyagina TG. Markeryi hronicheskoy bolezni pochek u detey s obstruktsiey mochevyih putey i puzyirno-mochetochnikovyim reflyuksom. Pediatricheskaya farmakologiya 2015;12 (4): 407–413]

13. Уразаева ЛИ, Максудова АН. Биомаркеры раннего повреждения почек: Нефрология, практическая медицина, инновационные технологии в медицине. *Редактор* 2014;1:125–130 [Urazaeva LI, Maksudova AN. Biomarkeryi rannego povrezhdeniya pochek: Nefrologiya, prakticheskaya meditsina, innovatsionnyie tehnologii v meditsine. Redaktor 2014;1:125–130]

14. Lee RS. Biomarkers for peadiatric urological disease. *Curr Opin Urol* 2009;19 (4): 397–401

15. Chertin B, Rolle U, Cascio S. Upregulation of angiotensin II receptors in reflux nephropathy. *Pediatr Surg* 2002; 37(2):251–255

16. Morales MG, Vazquez Y, Acuña MJ et al. Angiotensin II-induced pro-fibrotic effects require p38MAPK activity and transforming growth factor beta 1 expression in skeletal muscle cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2012;44(11):1993–2002

17. Fouzas S, Krikelli E, Vassilakos P et al. DMSA scan for revealing vesicoureteral reflux in young children with urinary tract infection. *Pediatrics* 2010;126:513–519

18. Стрелкова ТН. Клиническое значение оценки метаболитов обмена коллагена при пиелонефритах у детей.

Медицинский альмонах: ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» 2012; 2:(21):217 [Strelkova TN. Klinicheskoe znachenie otsenki metabolitov obmena kollagena pri pielonefritah u detey. Meditsinskiy almonah: GBOU VPO «Izhevskaya gosudarstvennaya meditsinskaya akademiya» 2012; 2:(21):217]

19. Lebowitz RL, Olbing H, Parkkulainen KV et al. International system of radiographic grading of vesicoureteric reflux. International Reflux Study in Children. *Pediatr Radiol* 1985; 15:105–109

20. Piepsz A, Colarinha P, Gordon I, Hahn K. Peadiatric Committee of the European Association of Nuclear Medicine. Guidelines for 99-mTc-DMSA scintigraphy in children. *Eur J Nucl Med* 2001; 28:BP37–BP41

21. Hussein A, Askar E, Elsaeid M, Schaefer F. Functional polymorphisms in transforming growth factor-beta-1 (TGFbeta-1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) genes modify risk of renal parenchymal scarring following childhood urinary tract infection. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25:779–785

22. Ruiz-Ortego M, Lorenso O, Suzuki Y, Ruperes M. Proinflamatory actions of angiotensin II. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001; 10:321–329

23. Биохимия: учебник для вузов. Е.С. Северин, ред.; 2009 (5):768 [Biohimiya: uchebnik dlya vuzov pod red. E.S.Severina; 2009 (5):768]

24. Sabasinsca A, Zoch-Zwierz V, Wasilevsca A, Porowski T. Laminin and transforming growth factor beta-1 in children with vesicoureteric reflux. *Pediatr Nephrol* 2008; 23:769–774

25. Peter J. Margetts, Catherine Hoff, Limin Liu. Transforming growth factor β-induced peritoneal fibrosis is mouse strain dependent. *Oxford Journals Medicine Nephrology Dialysis Transplantation* 2012; 28(8): 2015–2027

26. Махачев ВМ, Корсунский АА, Османов ИМ, Длин В.В. Клиническое значение определения белков в моче для ранней диагностики рефлюкс-нефропатии у детей. *Нефрология и диализ* 2005; 7(1):41–45 [Mahachev VM, Korsunskiy AA, Osmanov IM, Dlin VV. Klinicheskoe znachenie opredeleniya belkov v moche dlya ranney diagnostiki reflyuks-nefropatii u detey. Nefrologiya i dializ, 2005;7(1):41–45]

27. Chiou YY, Chiu NT, Chen MJ, Cheng HL. Role of beta 2-microglobulinuria and microalbuminuria in pediatric febrile urinary tract infection. *Acta Paediatr Taiwan* 2001;42(2):84–89

28. Sali V. Importanța diagnostică a determinării α-glicozidazei neutre și a β2-microglobulinei în pilonefrita cronică. Arta Medică, 2007:5 (26):41–44

29. Karlen J, Linne T, Wikstad I, Aperia A. Incidence of microalbuminuria in children with pyelonephritic scarring. *Pediatr Nephrol* 1996;10(6):705–708

30. Kaminska A, Jung A, Olszewski S. β2-microglobulinuria in children with vesico-ureteral reflux and recurrent urinary tract infections. *Pol Merkuriusz Lek* 2000; 8 (46):240–241

31. Kivirikko KI. Urinary excretion of hydroxyproline in health and disease. *Int rev Connect Tiss Res* 1970; 5:93–163

32. Phang JM, Hu CA, Valle D. Disorders of profile and hydroxyproline metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, SLY ws, Vallee D. The metabolic and molecular bases of inherited disease. *McGraw – Hill: New York* 2001:1821–1938

33. Nikfar R, Khotaee G, Ataee N, Shams S. Usefulness of procalcitonin rapid test for the diagnosis of acute pyelonephritis in children in the emergency department. *Pediatrics International* 2010;52(2):196–198

34. Leroy S, Gervaix A. Procaltitonin: A key marker in children with urinary tract unfection. *Advances in urology* 2011; 1–7

35. Захарова ИН, Кучерова ВВ. Роль прокальцитонина в дифференциальной диагностике микробно-воспалительных заболеваний почек. Актуальные проблемы детской нефрологии. В: *Материалы Международной школы и научно-практической конференции по детской нефрологии, Оренбург*, 2010;130 [Zaharova I.N, Kucherova VV. Rol prokaltsitonina v differentsialnoy diagnostike mikrobno-vospalitelnyih zabolevaniy pochek. Aktualnyie problemyi detskoy nefrologii. Materialyi Mezhdunarodnoy shkolyi i nauchno-prakticheskoy konferentsii po detskoy nefrologii, Orenburg, 2010;130]

36. Mantadakis E, Plessa E, Vouloumanou EK, Karageorgopoulos DE, Chatzimichael A. Serum procalcitonin for prediction of renal parenchymal involvement in children with urinary tract infections: a meta-analysis of prospective clinical studies. *The Journal of Pediatrics* 2009; 155: (6): 875–881

37. Benador N, Siegrist C-A, Gendrel D et al. Procalcitonin is a marker of severity of renal lesions in pyelonephritis. *Pediatrics*1998; 102:1422–1425

38. Nikfar R, Khotaee G, Ataee N, Shams S. Usefulness of procalcitonin rapid test for the diagnosis of acute pyelonephritis in children in the emergency department. *Pediatrics International* 2010; 52:(2):196–198

39. Bressan S, Andreola B, Zucchetta P, Montini G. Procaltitonin as a predictor of renal scarring in infants and young children. *Pediatr Nephrology* 2009; 24: 1199–1204

40. Kotoula A, Gardikis S, Tsalkidis A. Procaltitonin for the early prediction of renal parenchymal involvement in the children with UTI: preliminary results. *International Urology and Nephrology* 2009; 41 (2):393–399

Сведения об авторах:

Зайкова Наталья Михайловна, канд. мед. наук
Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Кафедра педиатрии и инфекционных болезней педиатрического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва; Институт Матери и Ребенка, г. Кишинев, Молдова, ассистент кафедры. Тел.: 8-964-529-90-49, nataliazaikova@mail.ru
Natalia M. Zaicova MD, PhD
Russia, 119991, Moscow, Trubetskaya str., 8, p. 2. Department of Pediatrics and Communicable Diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University Moscow, Russia, Institution of Mother and Child Care, Kishinev, Moldova. Tel.: 8-964-529-90-49, nataliazaikova@mail.ru

Проф. Длин Владимир Викторович, д-р мед. наук
Научно-исследовательский клинический институт педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва. Tel.: 8 (916) 634-34-53, vdlin@pedklin.ru
Vladimir V. Dlin, professor
Pirogov Russian National Research Medical University. Tel.: 8 (916) 634-34-53, vdlin@pedklin.ru

Еремеева Алина Владимировна, канд. мед. наук
Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Кафедра педиатрии и инфекционных болезней педиатрического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, ассистент кафедры. Тел.: 8-916-670-14-87, aleremeeva@mail.ru,
Alina V.Eremeeva MD, PhD
Russia, 119991, Moscow, Trubetskaya str., 8, p. 2. Department of Pediatrics and Communicable Diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University Moscow. Tel.: 8(916) 670-14-87, aleremeeva@mail.ru

Синицына Лилия Алексеевна, канд. мед. наук
2060, Молдова, г. Кишинев, ул. Буребиста, д. 93. Институт Матери и Ребенка, старший научный сотрудник, зав. патоморфологической лабораторией. Тел: +3-732-252-35-57, liliasinitsina@mail.ru
Lilia V.Sinitcina MD, PhD
2060, Moldova Kishinev, Institution of Mother and Child Care. Senior scientific researcher, head of pathomorphology laboratory. Тел.: +3-732-252-35-57, liliasinitsina@mail.ru,

Проф. Ревенко Нелли Ефимовна, д-р мед. наук
2060, Молдова, г. Кишинев, ул. Буребиста, д. 93. Институт

Матери и Ребенка, зам. директора по науке. Тел.: +3-732-252-35-57, neli_revenco@mail.ru
Nelli E.Revenco
2060, Institution of Mother and Child Care, Kishinev, Moldova, Burebista, 93. Professor, Deputy Director for science. Тел.: +3-732-252-35-57, neli_revenco@mail.ru

Проф. Корсунский Анатолий Александрович, д-р мед. наук
Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Кафедра педиатрии и инфекционных болезней педиатрического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Тел.: 8-903-725-84-57, dr_kaa@mail.ru
Anftolii A. Korsunskii, professor
Russia, 119991, Moscow, Trubetskaya str., 8, p. 2. Department of Pediatrics and Communicable Diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University Moscow, Russia. Tel.: 8-903-725-84-57, dr_kaa@mail.ru

Юдина Юлия Владимировна
Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2. Кафедра педиатрии и инфекционных болезней педиатрического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, врач-интерн. Тел.: 8-977-615-87-67, yuliayudina1989@mail.ru
Uilia Vladimirovna Uidina
Russia, 119991, Moscow, Trubetskaya str., 8, p. 2. Department of Pediatrics and Communicable Diseases, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University Moscow, Russia. Intern doctor. Tel.: 8-977-615-87-67, yuliayudina1989@mail.ru

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию: 20.12.2017
Принята в печать: 22.03.2018
Article received: 20.12.2017
Accepted for publication: 22.03.2018