

Д.А. Морозов, О.Л. Морозова, И.А. Будник, Д.С. Тарасова, Л.Д. Мальцева

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ХРОНИЧЕСКОГО ПИЕЛОНЕФРИТА У ДЕТЕЙ С АНОРЕКТАЛЬНЫМИ МАЛЬФОРМАЦИЯМИ

ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ, Москва, РФ

Аноректальные мальформации (АРМ) встречаются с частотой от 1:500 до 15 000 живых новорожденных и в 25–54% случаев сочетаются с врожденными пороками развития мочевыводящих путей (ВПР МВП). У пациентов с АРМ и ВПР МВП существует ряд факторов, способствующих персистенции локального хронического воспалительного процесса в МВП. Цель исследования: провести сравнительный анализ изменений содержания провоспалительных (IL1 $\beta$ , IL6, IL8 и MCP-1), противовоспалительных (IL10) и проангиогенных (VEGF) цитокинов в моче у детей с АРМ в динамике течения хронического пиелонефрита (ХП). Обследованы 34 ребенка с ХП в стадии обострения на фоне ВПР МВП, которые в зависимости от наличия АРМ были разделены на две группы: 1-я группа – 20 пациентов с АРМ, 2-я группа – 14 детей без АРМ. Помимо стандартного комплекса обследования, включавшего клинические данные общего анализа крови и мочи, посева мочи, ультразвукового исследования почек, микционной цистуретрографии, нефросцинтиграфии (99Тс-DMSA), было проведено исследование биомаркеров в моче методом иммуноферментного анализа (ELISA) в трех точках: при поступлении пациента в стационар до начала антибактериальной терапии (1-я точка исследования), через 5–7 дней от начала курса лечения (2-я точка исследования) и через 1,5 мес после лечения (3-я точка исследования). У пациентов с АРМ в сочетании с ВПР МВП, имеющих ХП в стадии обострения, определяются высокие концентрации цитокинов мочи (IL1 $\beta$ , IL6, IL8, MCP-1 и VEGF) даже спустя 1,5 мес после проведения антибактериальной терапии, когда полностью отсутствуют клинические проявления воспаления в МВП. Мониторинг цитокинов представляет собой новый подход к оценке активности воспалительного процесса в МВП и персонализированной стратегии лечения пациентов с АРМ и ВПР МВП.

**Ключевые слова:** цитокины, хронический пиелонефрит, аноректальные мальформации, дети.  
**Цит.:** Д.А. Морозов, О.Л. Морозова, И.А. Будник, Д.С. Тарасова, Л.Д. Мальцева. Молекулярные маркеры хронического пиелонефрита у детей с аноректальными мальформациями. Педиатрия. 2016; 95 (5): 34–40.

D.A. Morozov, O.L. Morozova, I.A. Budnik, D.S. Tarasova, L.D. Maltseva

## MOLECULAR MARKERS OF CHRONIC PYELONEPHRITIS IN CHILDREN WITH ANORECTAL MALFORMATIONS

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Anorectal malformations (ARM) occur in 1: 500 to 15 000 live births cases and in 25–54% of cases are combined with urinary tract congenital malformations (UTCM). Patients with ARM and UTCM have several factors of local chronic inflammatory process in UT persistence. Objective of the research – to conduct a comparative analysis of changes in proinflammatory (IL1 $\beta$ , IL6, IL8 and MCP1), anti-inflammatory (IL10) and proangiogenic (VEGF) cytokines in the urine of children with ARM in chronic pyelonephritis (CP) course dynamics. The study included 34 children with CP in the acute stage with UT CM. Patients were divided into two groups: 1<sup>st</sup> group – 20 children with ARM, 2<sup>nd</sup> group – 14 children without ARM. In addition to the standard examination, which included clinical data of blood and urine analysis, urine culture, kidneys ultrasound examination,

### Контактная информация:

Морозов Дмитрий Анатольевич – д.м.н., проф.,  
зав. каф. детской хирургии, урологии и андрологии  
ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ  
Адрес: Россия, 119991, г. Москва,  
Ломоносовский пр-кт, 2/62  
Тел.: (916) 868-70-44, E-mail: damorozov@list.ru  
Статья поступила 14.06.16,  
принята к печати 26.08.16.

### Contact Information:

Morozov Dmitry Anatolyevich – MD., prof., Head  
of Pediatric Surgery, Urology and Andrology  
Department, I.M. Sechenov First Moscow State  
Medical University  
Address: Russia, 119991, Moscow,  
Lomonosovskiy prospect, 2/62  
Tel.: (916) 868-70-44, E-mail: damorozov@list.ru  
Received on Jun. 14, 2016,  
submitted for publication on Aug. 26, 2016.

cystourethrography, nephroscintigraphy (99TcDMSA), examination included study of biomarkers in urine by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) at three points: the patient's admission to hospital before the start of antibiotic therapy (1<sup>st</sup> study period), after 5–7 days of starting treatment (2<sup>nd</sup> study period) and 1,5 months after treatment (3<sup>rd</sup> study period). Patients with ARM combined with UT CM and CP in the acute stage have high concentrations of urinary cytokines (IL1 $\beta$ , IL6, IL8, MSR1, VEGF) even after 1,5 months after antibiotic therapy, when there are no clinical manifestations of inflammation in UT. Monitoring of cytokines is a new approach to the evaluation of inflammatory process activity in UT and personalized treatment strategies for patients with ARM and UT CM.

**Keywords:** cytokines, chronic pyelonephritis, anorectal malformations, children.

**Quote:** D.A. Morozov, O.L. Morozova, I.A. Budnik, D.S. Tarasova, L.D. Maltseva. Molecular markers of chronic pyelonephritis in children with anorectal malformations. *Pediatrics*. 2016; 95 (5): 34–40.

Аноректальные мальформации (АРМ) представляют собой широкий спектр патологии, сопровождающейся поражением прямой кишки и анального канала, и достаточно часто встречаются в практике детского хирурга [1]. В одних случаях лечение АРМ не представляет сложностей, в других – трудности, связанные с формированием запирающего аппарата прямой кишки дополняются неоднозначностью выбора тактики при наличии различных сочетанных аномалий [2]. Каждый третий пациент с АРМ имеет пороки развития органов мочевыводящих путей (МВП) [3, 4]. Наличие патологических свищевых коммуникаций между прямой кишкой и МВП, обширные реконструктивные операции, проводимые детям с АРМ приводят к анатомо-физиологическим изменениям в малом тазу, нарушению колодинамики, повышению проницаемости кишечной стенки, что способствует транслокации микрофлоры в МВП и латентному течению локального хронического воспаления [5, 6]. Как правило, внимание детских хирургов сосредоточено прежде всего на коррекции АРМ, что приводит к несвоевременной диагностике и субъективной оценке тяжести течения воспалительного процесса в МВП.

Исследования последних лет показывают, что ведущее место среди факторов риска и причин развития хронической болезни почек (ХБП) занимают врожденные аномалии развития (ВНР) МВП с персистенцией хронической инфекции [7, 8]. Даже после однократного эпизода инфекции МВП, несмотря на своевременное проведение антибактериальной терапии, у 10–65% пациентов диагностируются наличие рубцов в почечной паренхиме при нефросцинтиграфии и нарушение функции почек различной степени тяжести [9, 10]. Возможно, что в условиях сочетанной патологии, АРМ и пороках МВП, существует ряд факторов, предрасполагающих к переходу острого воспалительного процесса в хронический. Диагностика острого пиелонефрита в настоящее время не вызывает трудностей. Однако установление латентного течения хронического воспаления в МВП, практически не имеющего клинических проявлений, становится проблематичным. В связи с этим очевидна высокая потребность клиницистов в чувствительных и высокоспецифичных скрининговых методах

диагностики и мониторинга хронического пиелонефрита (ХП) у детей с АРМ.

Многочисленные исследования последнего десятилетия показывают, что определение уровней различных цитокинов, как основных регуляторов межклеточного взаимодействия и развития воспалительного процесса, в сыворотке крови и моче помогает не только диагностировать наличие острого воспалительного процесса в МВП [11, 12], но и позволяет прогнозировать риск развития нефросклероза у данной категории пациентов [13, 14]. Наиболее перспективным, по данным ряда исследователей, признано определение в моче основных провоспалительных (IL1 $\beta$ , IL6, IL8) и противовоспалительных (IL10) цитокинов [15]. Следует отметить, что ключевая роль в формировании клеточного инфильтрата в паренхиме почечной ткани при воспалении принадлежит моноцитарному хемоаттрактантному протеину-1 (MCP-1) [16]. Кроме того, показано, что среди других цитокинов MCP-1 является биомаркером раннего формирования тубулоинтерстициального фиброза у пациентов с нормальной функцией почек [17].

В процессе индукции синтеза эндотелием сосудов медиаторов, обеспечивающих ремоделирование почечной паренхимы (в первую очередь ангиотензина II), происходит повышение экскреции васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF). VEGF синтезируется подоцитами и принимает участие в регуляции физиологических процессов, таких как ангиогенез и лимфогенез [18, 19]. Также установлена роль фактора в поддержании перитубулярного кровотока [20]. Его вазодилатирующий эффект осуществляется за счет активации прежде всего эндотелиальной NO-синтазы [21]. Результатом вазодилатации является гломерулярная гиперfiltrация с последующей альбуминурией. Была установлена корреляция между мочевым уровнем данного фактора, сывороточным уровнем  $\beta_2$ -микроглобулина и мочевым уровнем  $\alpha_1$ -макроглобулина у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом, однако 60% пациентов с высокими показателями VEGF имели нормальные показатели  $\beta_2$ -микроглобулина в сыворотке и  $\alpha_1$ -макроглобулина в моче, что позволило авторам сделать выводы, что эндотелиальный фактор является ранним индикатором развития

нефросклероза [22]. Кроме того, R. Grenda et al. (2007) показали положительную корреляционную связь между уровнем мочевого экскреции VEGF и TGF $\beta$ 1 у детей с обструктивными уропатиями [23].

В то же время сведения об анализе цитокинов в моче после проведения курса антибактериальной терапии и достижения очевидного клинического выздоровления пациента неоднозначны [12, 14, 15]. Вышесказанное предопределило попытку создания нами оптимального набора молекулярных маркеров для диагностики и мониторинга ХП у пациентов с АРМ.

Цель исследования – провести сравнительный анализ изменений содержания провоспалительных (IL1 $\beta$ , IL6, IL8 и MCP-1), противовоспалительных (IL10) и проангиогенных (VEGF) цитокинов в моче у детей с АРМ в динамике течения ХП.

#### Материалы и методы исследования

Были обследованы 34 ребенка с ХП в стадии обострения и ВПР МВП при наличии информированного согласия родителей пациентов. Исследование выполнено в соответствии с «Основными законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан» от 22.07.1993 № 5487-1 (с изменениями от 2.02.2006), приказом ФМБА РФ от 30.03.2007 № 88 и ст. 20 Федерального закона РФ от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» и одобрено локальным этическим комитетом. В зависимости от наличия АРМ все пациенты были разделены на две группы. В 1-ю группу вошли 20 пациентов, у которых АРМ сочетались с ХП в фазе обострения на фоне ВПР МВП. Во 2-ю группу были отнесены 14 детей с ХП в фазе обострения на фоне ВПР МВП без АРМ. Средний возраст пациентов составил 4,5 $\pm$ 3,6 года, соотношение мальчики/девочки – 21/13. Критериями исключения пациентов из исследования были: возраст менее 3 месяцев, наличие тяжелой сопутствующей патологии, интеркуррентные воспалительные заболевания, декомпенсированная форма почечной недостаточности, отказ родителей от участия в исследовании. Группу сравнения составили 20 практически здоровых детей, стратифицированных по полу и возрасту, без инфекции МВП или иной патологии в анамнезе.

Диагноз обострения ХП устанавливали на основании клинических проявлений (лихорадка – повышение аксиллярной температуры свыше 38 °С, боль в животе или ее эквиваленты у детей младшей возрастной группы, отказ от еды в группе детей менее 3 лет), а также результатов стандартного лабораторного исследования (общий анализ крови – наличие нейтрофильного лейкоцитоза со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, общий анализ мочи – пиурия, положительный посев мочи). У детей исследованию подвергалась моча, полученная как при естественном мочеиспускании, так и при катетеризации мочевого пузыря. Для исследования собирали среднюю порцию первой

утренней мочи в объеме до 50 мл в стерильный плотно закрывающийся контейнер. Образцы для исследования доставляли в лабораторию в течение 2 ч. В работе применяли количественные методы бактериологического исследования мочи: метод калиброванной петли и метод посева определенного объема образца. В качестве питательных сред использовали кровяной агар, агар Эндо, агар Плоскирева, желточно-солевой агар, энтерококковый агар, шоколадный агар с витаминными добавками, агар Клиглера. В качестве среды накопления использовали бульон Хоттингера. Посевы термостатировали при температуре 35–37 °С в течение 24–48 ч. Затем проводили подсчет выросших колоний, высевы на плотные питательные среды со среды накопления и дальнейшую идентификацию выросших микроорганизмов. Микробиологические исследования выполняли с использованием сертифицированных тест-систем и питательных сред. Учет результатов осуществляли на автоматических анализаторах: подсчет колоний на микробиологическом анализаторе BIOMIC (США) с помощью компьютерной программы BIOMIC V3. Идентификацию возбудителей, определение родовой, видовой и типовой принадлежности проводили на микробиологическом анализаторе МикроТакс с помощью компьютерной программы МСТ 6 версия 6.00 SY-LAB, Австрия и микротест-систем API с компьютерной программой apiwebtm stand alone V 1.2.1 Biomerieux (Франция). Диагностически значимой считали бактериурию свыше 10<sup>5</sup> КОЕ в 1 мл средневыведенной порции мочи при отсутствии симптомов инфекции (ИМВП), 10<sup>4</sup> КОЕ в 1 мл средневыведенной порции мочи при наличии симптомов ИМВП или в моче, взятой катетером. При выявлении микроорганизмов в биоптате МВП имело значение любое количество КОЕ (более 10 идентичных колоний).

Кроме того, всем пациентам проводили ультразвуковое исследование почек до и после мочеиспускания, микционную цистоуретрографию, доплерографию почечного кровотока, нефросцинтиграфию (99Тс-DMSA). Оценка структурного состояния и размеров почек, сохранности кровотока и функции почек давала возможность судить о повреждении почечной паренхимы на фоне данной патологии.

Все пациенты получали эмпирическую терапию антибиотиками широкого спектра действия, которая в дальнейшем была скорректирована в соответствии с учетом результатов чувствительности к антибиотикам.

Исследование уровня биомаркеров проводили при поступлении пациента в стационар, до начала антибактериальной терапии (1-я точка исследования), через 5–7 дней от начала курса лечения (2-я точка исследования) и через 1,5 месяца после лечения (3-я точка исследования). В группе сравнения уровень биомаркеров определяли однократно. После забора мочи полученные аликвоты замораживали до проведения исследования при температуре –25 °С. Биомаркеры определяли методом иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием коммерчески доступных наборов в соответствии с инструкцией завода-изготовителя (Вектор-Бест, Новосибирск, Россия). Во всех образцах был дважды определен уровень биомаркеров, после чего принимали среднее из двух значений.

Характеристика групп больных в 1-й точке исследования при поступлении в стационар

Показатели	Группа сравнения (n=20)	1-я группа ХП и АРМ (n=20)	2-я группа ХП без АРМ (n=14)
Возраст, Ме (LQ-UQ), мес	45 (32-53)	33 (12-66)	36 (20-84)
Мужской/женский пол, n	12/8	12/8	9/5
Аксиллярная температура, Ме (LQ-UQ), °С	36,5 (36,3-36,7)	38,2 (38,0-38,5)	38,2 (38,0-38,3)
Лейкоциты, Ме (LQ-UQ), · 10 <sup>9</sup> /мкл	6,3 (5,8-6,6)	11,9 (10,4-13,2)	12,0 (10,6-14)
СОЭ, Ме (LQ-UQ), мм/ч	7 (4-8)	25 (20-30)	28 (25-32)
Мочевина, Ме (LQ-UQ), ммоль/л	5,7 (4,4-6,4)	4,7 (4,2-5,7)	5,4 (4,4-5,7)
Креатинин, Ме (LQ-UQ), ммоль/л	60 (52-69)	60 (54-67)	57 (51-68)
Общий белок мочи, Ме (LQ-UQ), г/л	0,0 (0,0-0,0)	0,4 (0,2-0,9)	0,9 (0,6-1,4)
<b>Посев мочи:</b>			
<i>Escherichia coli</i> , n (%)	–	8 (40)	5 (36)
<i>Enterococcus faecalis</i> , n (%)	–	4 (20)	3 (21)
<i>Klebsiella spp.</i> , n (%)	–	2 (10)	2 (14)
<i>Proteus spp.</i> , n (%)	–	2 (10)	2 (14)
Прочие микроорганизмы, n (%)	–	4 (20)	2 (14)

Минимальные обнаруживаемые концентрации IL1 $\beta$ , IL6, IL8, IL10, VEGF и MCP-1 были 1, 0,5, 2, 1, 5, 15 и пг/мл соответственно.

Статистический анализ результатов обследования и лечения пациентов проведен с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0 for Windows корпорации StatSoft-Russia, GraphPad Prism 6 for Windows корпорации GraphPad Software, США. Данные представлены в виде медианы (Ме) и межквартильного диапазона (LQ-UQ). Для оценки статистически значимых различий между группами применяли непараметрический критерий достоверности различий Краскела-Уоллиса по отношению к контрольной группе с поправкой Данна для множественных сравнений. Различия считали статистически значимыми при значении  $p < 0,05$ .

#### Результаты и их обсуждение

В группу пациентов с АРМ вошли 7 детей с промежностным свищом, 6 с вестибулярным свищом, 3 с уретральным свищом, 4 с АРМ без свища. Все пациенты имели скоррегированную мальформацию. При промежностных и вестибулярных фистулах выполняли операцию из переднего сагиттального доступа, без предварительной колостомии. Пациенты без свища и с уретральным свищом были оперированы посредством задней сагиттальной аноректопластики по А. Рена с электромиоидентификацией сфинктерного аппарата. Двое из них обследованы до этапа закрытия сигмостомы. Ближайшие результаты оценены как удовлетворительные, бужирование неануса проводили по принятой схеме, у 2 больных зарегистрирован стеноз ануса, выполнена его реконструкция и продолжено бужирование, в одном наблюдении установлен пролапс слизи-

стой оболочки прямой кишки после операции, реконструктивной операции не потребовалось.

С помощью стандартного комплекса урологического обследования у 4 больных этой группы был диагностирован односторонний гидронефроз и у 16 пациентов установлен пузырно-мочеточниковый рефлюкс (ПМР) (у 10 пациентов – односторонний ПМР и у 6 – двусторонний ПМР) в 22 мочеточниках, в т.ч. в одном случае ПМР II степени, в 8 – ПМР III степени, в 10 – ПМР IV степени, в 3 – ПМР V степени. Градацию ПМР по степеням производили в соответствии с международной 5-степенной классификацией.

В группе пациентов без АРМ у 2 детей был диагностирован односторонний гидронефроз, у 12 больных был установлен ПМР (у 6 пациентов – односторонний ПМР и у 6 – двусторонний ПМР) в 18 мочеточниках, в т.ч. в одном случае ПМР II степени, в 7 – ПМР III степени, в 7 – ПМР IV степени, в 3 – ПМР V степени.

При поступлении в стационар (1-я точка исследования) у всех пациентов 1-й и 2-й групп наблюдались лихорадка, лейкоцитоз, увеличение СОЭ, пиурия (сплошь все поля зрения), положительный посев мочи (табл. 1). Доминирующим патогеном у детей 1-й и 2-й групп являлась *Escherichia coli*. Второе место в структуре возбудителей ИМВП занял *Enterococcus faecalis*. Реже из мочи пациентов выделялись *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.* и другие виды микроорганизмов. Статистически значимых различий между группами по данным стандартного лабораторного обследования не наблюдалось. Проведенная антибактериальная терапия в обеих группах привела к значительному клиническому улучшению (2-я и 3-я точки исследования), о чем

Таблица 2

**Результаты исследования цитокинов мочи в 1-й точке (при поступлении в стационар)**

Цитокины, пг/мл	Группа сравнения (n=20)	1-я группа ХП и АРМ (n=20)		2-я группа ХП без АРМ (n=14)		
		Me (LQ-UQ)	Me (LQ-UQ)	P <sub>к</sub>	Me (LQ-UQ)	P <sub>к</sub>
IL1β	3,7 (1,2-7,4)	2,1 (1,6-3,1)	<0,001	1,75 (1,4-21)	0,375	<0,001
IL6	2,4 (1,5-3,5)	2,3 (1-5,7)	<0,001	3,1 (1,2-5,9)	0,218	0,047
IL8	6,1 (4,9-9,5)	5,2 (1-263)	<0,001	15,1 (8-23,4)	0,017	0,196
IL10	6,4 (5,5-9,7)	139,9 (126,7-159,9)	0,375	13,5 (10,3-15,7)	0,011	0,007
VEGF	165,8 (142-237,5)	239 (199-371,4)	<0,001	227,5 (91,9-258,4)	0,255	0,041
MCP-1	121,9 (106,7-153,5)	268,7 (197,8-400,8)	<0,001	205,3 (155,8-271,5)	0,002	0,375

Здесь и в табл. 3 и 4: значение P-value были рассчитаны с использованием теста Краскела-Уоллиса с поправкой Данна для множественных сравнений; P<sub>к</sub> – критерий достоверности различий по отношению к показателям группы сравнения, P<sub>1</sub> – критерий достоверности различий между показателями 1-й и 2-й группы.

Таблица 3

**Результаты исследования цитокинов мочи во 2-й точке  
(на 5-7-е сутки антибиотикотерапии)**

Цитокины, пг/мл	Группа сравнения (n=20)	1-я группа ХП и АРМ (n=20)		2-я группа ХП без АРМ (n=14)		
		Me (LQ-UQ)	Me (LQ-UQ)	P <sub>к</sub>	Me (LQ-UQ)	P <sub>к</sub>
IL1β	3,7 (1,2-7,4)	105,9 (33,9-111,6)	<0,001	67,65 (36,1-76)	0,375	<0,001
IL6	2,4 (1,5-3,5)	364,2 (1,7-463)	<0,001	45,35 (33,8-81,2)	0,218	0,047
IL8	6,1 (4,9-9,5)	177,8 (3,5-343,7)	<0,001	220,25 (115,7-330,7)	0,017	0,196
IL10	6,4 (5,5-9,7)	14,5 (12,8-18,1)	0,375	14,65 (12,1-15,8)	0,011	0,007
VEGF	165,8 (142-237,5)	432,5 (235,5-617,4)	<0,001	328,5 (272,4-475,6)	0,255	0,041
MCP-1	121,9 (106,7-153,5)	222,3 (175,9-1353,9)	<0,001	644,75 (263,9-2565)	0,002	0,375

свидетельствовало полное купирование клинических признаков и симптомов заболевания, в т.ч. нормализация температуры тела, числа лейкоцитов, СОЭ и санация мочи, отрицательные посевы мочи.

Анализ результатов исследования содержания различных цитокинов в моче показал, что у пациентов 1-й группы (у детей с ХП с АРМ) в 1-й точке исследования были обнаружены повышение содержания IL10 и MCP-1 и нормальный уровень IL1β, IL6, IL8 и VEGF (табл. 2). Повышение уровня IL10 в моче в период обострения заболевания (1-я точка) может свидетельствовать о реализации механизма «уклонения» инфекционных агентов от нативного иммунного ответа, опосредованного в первую очередь различными видами фагоцитов [24]. Кроме того, IL10 угнетает секрецию провоспалительных цитокинов (IL1, IL6, IL8), и, соответственно, может быть причиной формирования хронического воспа-

лительного процесса. У пациентов 2-й группы в этой точке (с ХП без АРМ) определялся нормальный уровень указанных цитокинов. Отсутствие высоких уровней провоспалительных цитокинов в 1-й точке отличается от ряда исследований, где был показан повышенный уровень мочевой экскреции IL1β, IL6 и IL8 у детей с острой ИМВП [11, 12]. Причинами несовпадения с данными литературы, на наш взгляд, являются: значительная лейкоцитурия у всех пациентов исследуемых групп и бактериурия, что приводило к выраженному увеличению протеолитической активности в образцах мочи. Лейкоциты являются источником целого ряда протеолитических ферменты, таких как эластаза, протеиназа 3 и катепсин G, способных к расщеплению практически любых белков, в т.ч. цитокинов [25]. Бактерии, находящиеся в моче, также могут влиять на концентрацию цитокинов, выделяя протеолитические ферменты и способствуя непо-

Результаты исследования цитокинов мочи в 3-й точке (через 1,5 мес после лечения)

Цитокины, пг/мл	Группа сравнения (n=20)	1-я группа ХП и АРМ (n=20)		2-я группа ХП без АРМ (n=14)		
		Me (LQ-UQ)	Me (LQ-UQ)	P <sub>к</sub>	Me (LQ-UQ)	P <sub>к</sub>
IL1β	3,7 (1,2-7,4)	33,2 (19,4-55,9)	<0,001	4 (3,2-5,7)	0,375	<0,001
IL6	2,4 (1,5-3,5)	52,5 (29,3-109,1)	<0,001	4,9 (4,2-7,4)	0,218	0,047
IL8	6,1 (4,9-9,5)	389,7 (371,4-400,4)	<0,001	236,3 (197,6-326,9)	0,017	0,196
IL10	6,4 (5,5-9,7)	6,9 (3,5-18,1)	0,375	1,7 (1,2-3,1)	0,011	0,007
VEGF	165,8 (142-237,5)	733 (597-792)	<0,001	312 (218-384)	0,255	0,041
MCP-1	121,9 (106,7-153,5)	425 (354-509)	<0,001	367 (329-392)	0,002	0,375

средственной прямой адгезии цитокинов на их поверхности [26].

Во 2-й точке исследования (на 5–7-е сутки от начала проведения антибактериальной терапии) как в 1-й группе, так и во 2-й группе пациентов, несмотря на значительное клиническое улучшение и нормализацию анализов мочи, было установлено значительное повышение концентрации всех исследуемых цитокинов мочи (табл. 3). Полученные нами результаты согласуются с данными литературы, в которых было отмечено повышение концентрации в моче IL6 и IL8 у детей с ПМП, которые были госпитализированы с острым пиелонефритом спустя 72 ч и 3–5 дней от начала антибактериальной терапии [9, 24]. Обращает на себя внимание тот факт, что у пациентов с АРМ уровень IL10 был не таким высоким, как до лечения. Это наблюдение частично объясняет увеличение концентрации провоспалительных цитокинов у пациентов с АРМ, находившихся на антибактериальной терапии. У пациентов с ХП без АРМ отмечено существенное снижение в моче уровня IL1β, IL6, IL8 через 12–48 ч проведения антибактериальной терапии, предполагая купирование воспалительного процесса. Эти факты подчеркивают важность нарушения уродинамики, препятствующей разрешению пиелонефрита.

Спустя 1,5 месяца после проведенного лечения, купирования симптомов воспаления и нормализации лабораторных анализов мы повторно исследовали цитокиновые профили в различных группах. У пациентов без АРМ IL8 и MCP-1 были увеличены, IL1β, IL6 и VEGF были близки к контрольным значениям, IL10 был ниже контрольного значения, это указывает на частичное разрешение воспалительного процесса. Полученные данные согласуются с исследованиями, в которых показано значительное снижение уровня IL1β в моче у пациентов с ПМП и наличием острого пиелонефрита спустя 2 недели от начала антибактериальной терапии. У пациентов с АРМ, напротив, было установлено повышение

в моче IL1β, IL6, IL8, MCP-1 и VEGF, что свидетельствует о наличии постоянного воспалительного процесса в МВП [11]. Провоспалительные цитокины, подобно гипоксии и протеинурии, стимулируют синтез тубулоэпителиальными клетками MCP-1 [27, 28]. MCP-1 активирует тубулярные клетки и обеспечивает трансдифференцировку их в миофибробласты. Кроме того, MCP-1, диффундируя через базолатеральную поверхность тубулярных клеток в интерстиций, привлекает огромное количество моноцитов/макрофагов и лимфоцитов. Этот механизм лежит в основе формирования клеточного инфильтрата [16]. Доказано, что определение в сыворотке крови и моче MCP-1 и тканевых факторов роста позволяет судить о развитии или прогрессировании нефросклероза [17]. Повышенный уровень VEGF в моче может являться следствием ремоделирования кровотока почечной паренхимы и свидетельствовать о начальных этапах развития нефросклероза [22, 23].

Эти результаты подтверждают наше предположение о том, что у пациентов с АРМ существует ряд предрасполагающих факторов, таких как наличие патологических свищевых коммуникаций между прямой кишкой и мочевыводящими путями, обширные реконструктивные операции, проводимые данной категории больных, анатомо-физиологические изменения в малом тазу, нарушение колодинамики и повышение проницаемости кишечной стенки, транслокация микрофлоры, способствующих трансформации острого локального воспалительного процесса в хронический и латентному его течению в МВП.

#### Заключение

Таким образом, у пациентов с АРМ в сочетании с пороками развития органов мочевыделительной системы, имеющими ХП в стадии обострения, определяются высокие концентрации цитокинов мочи (IL1β, IL6, IL8, MCP-1 и VEGF) даже спустя 1,5 месяца после проведения антибактериальной терапии, когда полностью отсут-

ствуют клинические проявления воспаления в МВП. Основываясь на этом заключении, можно прийти к выводу, что персистенция латентного воспалительного процесса в МВП повышает риск развития тубулоинтерстициального фиброза у данной категории больных [29, 30]. Мониторинг цитокинов представляет собой новый подход к оценке активности воспалительного процесса в МВП и персонализированной стратегии лечения пациентов с сочетанием урологической патологии и АРМ.

Применение методов молекулярной диагностики открывает большие перспективы в фунда-

ментальной и практической медицине. Важным шагом на пути к повышению точности ранней диагностики, выбору тактики лечения и профилактики повреждения почек у пациентов с АРМ является поиск оптимальных комбинаций биомаркеров, полно отображающих патофизиологические процессы в почке на разных стадиях хирургической коррекции.

**Конфликт интересов:** отсутствует.

**Финансовая поддержка:** авторы подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования, о которой необходимо сообщить.

## Литература

1. Аверин В.И., Ионон А.Л., Караваева С.А. и др. Аноректальные мальформации у детей (федеральные клинические рекомендации). Детская хирургия. 2015; 19 (4): 29–35.
2. Bischoff A, Levitt MA, Pena A. Update on the management of anorectal malformations. *Pediatr. Surg. Int.* 2013; 29: 899–904.
3. Антонова И.В. Анализ частоты и структуры пороков развития мочеполовой системы у новорожденных детей г. Омска. Педиатрия. 2010; 89 (3): 135–137.
4. Умалатова М.И., Османов И.М., Махачев Б.М. Факторы риска развития врожденных аномалий органов мочеполовой системы. Врач аспирант. 2013; 1.3 (56): 411–415.
5. Ganesan I, Rajah S. Urological anomalies and chronic kidney disease in children with anorectal malformations. *Pediatric Nephrology.* 2012; 27 (7): 1125–1130.
6. Sanchez S, Ricca R, Joyner B, Waldhausen JH. Vesicoureteral reflux and febrile urinary tract infections in anorectal malformations: a retrospective review. *J. Pediatr. Surg.* 2014; 49 (1): 91–94.
7. Вялкова А.А. Хроническая болезнь почек в педиатрической нефрологии (Региональные аспекты). Материалы Международной школы и научно-практической конференции по детской нефрологии «Актуальные проблемы детской нефрологии». Оренбург: Димур, 2010: 63–76.
8. Harambat J, van Stralen K, Kim JJ, E. Jane Tizard. Epidemiology of chronic kidney disease in children. *Pediatr. Nephrol.* 2012; 27 (3): 363–373.
9. Sharifian M, Anvaripour N, Karimi A, Fahimzad A, Mohkam M, Gholikhani F, Rafiee MA. The role of dexamethasone on decreasing urinary cytokines in children with acute pyelonephritis. *Pediatr. Nephrol.* 2008; 23: 1511–1516.
10. Sheu JN, Chen MC, Chen SM, Chen SL, Chiou SY, Lue KH. Relationship between serum and urine interleukin-6 elevations and renal scarring in children with acute pyelonephritis. *Scand. J. Urol. Nephrol.* 2009; 43: 133–137.
11. Sheu JN, Chen MC, Cheng SL, Lee IC, Chen SM, Tsay GJ. Urine interleukin-1beta in children with acute pyelonephritis and renal scarring. *Nephrology (Carlton).* 2007; 12: 487–493.
12. Renata Y1, Jassar H, Katz R, Hochberg A, Nir RR, Klein-Kremer A. Urinary concentration of cytokines in children with acute pyelonephritis. *Eur. J. Pediatr.* 2013; 172 (6): 769–774.
13. Gokce I, Alpay H, Biyikli N, Unluguzel G, Dede F, Topuzoglu A. Urinary levels of interleukin-6 and interleukin-8 in patients with vesicoureteral reflux and renal parenchymal scar. *Pediatr. Nephrol.* 2010; 25: 905–912.
14. Tramma D, Hatzistylianou M, Gerasimou G, Lafazanis V. Interleukin-6 and interleukin-8 levels in the urine of children with renal scarring. *Pediatr. Nephrol.* 2012; 27: 1525–1530.
15. Глыбочко П.В., Морозов Д.А., Свистунов А.А., Морозова О.Л. Новые возможности диагностики и прогнозирования течения хронического обструктивного пиелонефрита у детей. Цитокины и воспаление. 2009; 8 (3): 64–67.
16. Haller H, Bertram A, Nadrowitz F, Menne J. Monocyte chemoattractant protein-1 and the kidney. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2016; 25 (1): 42–49.
17. Wang X, Lieske JC, Alexander MP, Jayachandran M, Denic A, Mathew J, Lerman LO, Kremers WK, Larson JJ, Rule AD. Tubulointerstitial Fibrosis of Living Donor Kidneys Associates with Urinary Monocyte Chemoattractant Protein 1. *Am. J. Nephrol.* 2016; 43 (6): 454–459.
18. Malkiewicz A, Słomiński B, Skrzybowska M, Siebert J, Gutknecht P, Myśliwska J. The GA genotype of the –1154 G/A (rs1570360) vascular endothelial growth factor (VEGF) is protective against hypertension-related chronic kidney disease incidence. *Mol. Cell Biochem.* 2016; 418 (1–2): 159–165.
19. Harvey TW, Engel JE, Chade AR. Vascular Endothelial Growth Factor and Podocyte Protection in Chronic Hypoxia: Effects of Endothelin-A Receptor Antagonism. *Am. J. Nephrol.* 2016; 43 (2): 74–84.
20. Caron J, Michel PA, Dussaule JC, Chatziantoniou C, Ronco P, Boffa JJ. Extracorporeal shock wave therapy does not improve hypertensive nephropathy. *Physiol. Rep.* 2016; 4 (11). doi: 10.14814/phy2.12699.
21. Gu JW, Manning RD, Jr, Young E, et al. Vascular endothelial growth factor receptor inhibitor enhances dietary salt-induced hypertension in Sprague-Dawley rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2009; 297 (1): 142–148.
22. Konda R, Sato H, Sakai K, Abe Y, Fujioka T. Urinary excretion of vascular endothelial growth factor is increased in children with reflux. *Nephron Clin. Pract.* 2004; 98 (3): 73–78.
23. Grenda R, Wühl E, Litwin M, Janas R, Sladowska J, Arbeiter K, Berg U, Caldas-Afonso A, Fischbach M, Mehls O, Sallay P, Schaefer F. Urinary excretion of endothelin-1 (ET-1), transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) and vascular endothelial growth factor (VEGF165) in paediatric chronic kidney diseases: results of the ESCAPE trial. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2007; 22 (12): 3487–3494.
24. Javor J1, Králinský K, Sádová E, Červeňová O, Bucová M, Olejárová M, Buc M, Liptáková A. Association of interleukin-10 gene promoter polymorphisms with susceptibility to acute pyelonephritis in children. *Folia Microbiol. (Praha).* 2014; 59 (4): 307–313.
25. Bank U, Ansorge S. More than destructive: neutrophil-derived serine proteases in cytokine bioactivity control. *J. Leukoc. Biol.* 2001; 69: 197–206.
26. Wilson M, Seymour R, Henderson B. Bacterial perturbation of cytokine networks. *Infect. Immun.* 1998; 66: 2401–2409.
27. Stroo I, Claessen N, Teske GJ, Butter LM, Florquin S, Leemans JC. Deficiency for the chemokine monocyte chemoattractant protein-1 aggravates tubular damage after renal ischemia/reperfusion injury. *PLoS One.* 2015; 10 (4): e0123203.
28. Chung CH, Fan J, Lee EY, Kang JS, Lee SJ, Pyagay PE, Khoury CC, Yeo TK, Khayat MF, Wang A, Chen S. Effects of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  on Podocyte Expression of Monocyte Chemoattractant Protein-1 and in Diabetic Nephropathy. *Nephron Extra.* 2015; 5 (1): 1–18.
29. Krzemień G1, Roszkowska-Blaim M, Kostro I, Szmigielska A, Karpińska M, Sieniauska M, Bartłomiejczyk I, Paczek L, Toth K. Urinary levels of interleukin-6 and interleukin-8 in children with urinary tract infections to age 2. *Med. Sci. Monit.* 2004; 10 (11): CR593-7.
30. Nagler EV, Williams G, Hodson EM, Craig JC. Interventions for primary vesicoureteric reflux. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2011; 6: CD001532.