

С.Н. Николаев, М.Н. Никитский, Е.А. Лодыгина, Т.А. Склярлова,  
С.Л. Коварский, Л.Б. Меновщикова

## МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В СТЕНКЕ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ И АКТИВНОСТЬ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ГИПЕРАКТИВНОМ МОЧЕВОМ ПУЗЫРЕ У ДЕТЕЙ

Кафедра детской хирургии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ (зав. проф. А.Ю. Разумовский),  
городская детская клиническая больница № 13 им. Н.Ф. Филатова (главный врач проф. А.И. Чубарова),  
Москва, РФ

*Nikolayev S.N., Nikitskiy M.N., Lodygina E.A., Sklyarova T.A.,  
Kovarskiy S.L., Menovshchikova L.B.*

## METABOLIC ABNORMALITIES IN THE URINARY BLADDER WALL AND THE ACTIVITY OF RESPIRATORY ENZYMES OF PERIPHERAL BLOOD IN CHILDREN WITH OVERACTIVE BLADDER

Department of Pediatric Surgery of Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU)  
(headed by Razumovskiy A.Yu., Prof.); Filatov Children's Hospital № 13  
headed by Chubarova A.I., Prof., Chief Medical Officer), Moscow, Russia

Авторы наблюдали 115 пациентов (66 девочек и 49 мальчиков) в возрасте 4–15 лет: 94 ребенка с патологией уретеро-везикального соустья (89 – с пузырно-мочеточниковым рефлюксом и 5 – с мегауретером) и 21 ребенок без признаков обструктивной уропатии. У 50 детей диагностирован гиперактивный мочевой пузырь (ГАМП), у 65 – нормаактивный мочевой пузырь (НАМП). В ходе оперативного пособия проводили биопсию полнослойной стенки мочевого пузыря (МП) (94 биоптата) и исследование мазков периферической крови для оценки активности дыхательных ферментов в лимфоцитах (сукцинатдегидрогеназа – СДГ, α-глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа – ГФДГ, лактатдегидрогеназа – ЛДГ). Гистологические исследования биоптатов стенки МП не выявили морфологических различий при ГАМП и НАМП, но отмечены достоверные различия оптических характеристик включений микроконгломератов внутриклеточного кальция. Обнаружено существенное снижение гистохимической активности СДГ у детей с ГАМП по сравнению с НАМП. При оценке активности митохондриальных ферментов в лимфоцитах периферической крови выявлено достоверное снижение значений СДГ и ГФДГ у детей с ГАМП. Таким образом, признаки тканевой гипоксии детрузора можно выявить, исследуя активность дыхательных ферментов периферической крови. Для реабилитационной терапии пациентов с ГАМП, направленной на улучшение клеточного метаболизма, авторы использовали гипербарическую оксигенацию (ГБО) и различные метаболические препараты и их сочетание. Лучшие результаты получены у пациентов с ГАМП, получавших сеансы ГБО в сочетании с цитохромом С.

*Ключевые слова:* дети, гиперактивный мочевой пузырь, митохондриальные ферменты, гипоксия детрузора, гипербарическая оксигенация, метаболические препараты.

The authors have observed 115 patients (66 girls and 49 boys) aged 4 to 15 years old: 94 children with abnormal ureterovesical anastomosis (89 with vesicoureteral reflux and 5 with megaureter)

### Контактная информация:

Николаев Сергей Николаевич – д.м.н., проф. каф.  
детской хирургии ГБОУ ВПО РНИМУ  
им. Н.И. Пирогова МЗ РФ  
Адрес: Россия, 117997 г. Москва,  
ул. Островитянова, 1  
Тел.: (910) 402-94-45, E-mail: Snik.2011@mail.ru  
Статья поступила 4.02.14,  
принята к печати 28.01.15.

### Contact information:

Nikolayev Sergey Nikolayevich – Ph.D., Prof. of the  
Department of Pediatric Surgery of Pirogov Russian  
National Research Medical University (RNRMU)  
Address: Russia 117997 Moscow,  
Ostrovityanova street, 1  
Tel.: (910) 402-94-45, E-mail: Snik.2011@mail.ru  
Received on Feb. 4, 2014;  
submitted for publication on Jan. 28, 2015.

and 21 children without signs of obstructive uropathy. 50 children were diagnosed with overactive bladder (OAB), and 65 with normal bladder function. During the operational benefits there were biopsy of the entire bladder wall (94 biopsies) and peripheral blood smears done in order to assess the activity of respiratory enzymes in lymphocytes (succinate dehydrogenase – SDH, alpha-glucose-6-phosphate dehydrogenase – G6PD, lactate dehydrogenase – LDH). Histological study of biopsy specimens revealed no bladder wall morphological differences between OAB and normal bladder function, but there were significant differences in the optical characteristics of micro-conglomerate inclusions of intracellular calcium. There was also found a significant reduction in histochemical activity of SDH in children with OAB compared to those with normal bladder function. During the assessment of the activity of mitochondrial enzymes in peripheral blood lymphocytes a significant decrease in the values of SDH and G6PD in children with OAB was revealed. Thus, the signs of tissue hypoxia detrusor can be identified by examining the activity of respiratory enzymes in peripheral blood. The authors used a hyperbaric oxygenation therapy (HBOT) and various metabolic drugs and their combinations as a rehabilitation therapy in patients with OAB with the purpose of improving the cellular metabolism. The best results were obtained in patients with OAB treated with HBOT sessions coupled with cytochrome C.

*Key words:* children, overactive bladder, mitochondrial enzymes, detrusor hypoxia, hyperbaric oxygenation, metabolic drugs.

Гиперактивный вариант нейрогенной дисфункции мочевого пузыря (МП) является одной из наиболее распространенных причин недержания мочи у детей 4–15 лет и встречается в 18–20% случаев среди причин энуреза в широком смысле. В спектре клинических проявлений при гиперактивного мочевого пузыря (ГАМП) манифестируют императивные позывы, поллакиурия, дневное и ночное недержание мочи. Основной сопутствующей проблемой, кроме указанных симптомов, является прямо пропорциональная зависимость между ГАМП, степенью пузырно-мочеточникового рефлюкса (ПМР) и активностью пиелонефрита [1–3]. Поэтому терапия, направленная на снижение гиперактивности МП, позволяет не только устранить клинические его проявления, но и уменьшить интенсивность рефлюкса и, следовательно, снизить степень активности пиелонефрита.

Этиология ГАМП до настоящего момента окончательно не выяснена, поскольку данное состояние МП вызывают множество факторов. Основными из них являются повышенная чувствительность М-холинорецепторов детрузора к ацетилхолину, нарушения гипоталамо-гипофизарных отношений, супрапонтинные дисфункции, поражения на уровне периферической нервной системы. Однако в последние годы все большее внимание уделяется оценке активности детрузора с позиции состояния тканевого дыхания [4–6].

Гипоксическое состояние детрузора при ГАМП сложно объективно оценить анализом результатов неинвазивных методик, исследовать кровотоки в стенке МП у детей, особенно младшего возраста, не представляется возможным.

Современными диагностическими средствами, доступными в медицинских учреждениях, нет возможности оценить достоверно снижение метаболических процессов в стенке детрузора. Наиболее распространенным способом оценки внутренних органов является ультразвуковая диагностика (УЗИ). В норме при исследовании в В-режиме (черно-белый режим) стенка МП ровная, с четкими границами, толщина ее не

превышает 4 мм. При цветовом доплеровском картировании (ЦДК) в стенке МП определяются единичные цветовые сигналы. Скорость кровотока и диаметр сосудов стенки МП настолько малы, что количественная оценка гемодинамики в этой ситуации технически не представляется возможной.

При ГАМП ребенок не в состоянии удержать нужного количества мочи в МП, что осложняет задачу адекватного УЗИ. Для оценки кровотока можно использовать ректальные датчики, но мы считаем, что детям младшего возраста такое исследование проводить этически неправомерно.

Гипоксия детрузора обусловлена как циркуляторными нарушениями в стенке МП, так и нарушением утилизации кислорода. Морфологическим подтверждением нарушения биологического окисления и энергетического потенциала клетки являются изменения структуры митохондрий, митохондриальных включений, активности митохондриальных ферментов [1, 7–9].

#### Материалы и методы исследования

В клинике детской хирургии РНИМУ им. Н.И. Пирогова было проведено исследование по выявлению метаболических нарушений в стенке МП и проведены исследования ряда дыхательных ферментов лимфоцитов периферической крови у детей с ГАМП.

Под нашим наблюдением в урологическом отделении ДГКБ № 13 им. Н.Ф. Филатова находились 115 пациентов (66 девочек и 49 мальчиков) в возрасте от 4 до 15 лет. Распределение детей по полу и возрасту представлено в табл. 1.

Катамнестическое наблюдение проводили в течение 6 месяцев. Из 115 наблюдаемых детей 94 ребенка имели патологию уретеро-везикального соустья (УВС) и 21 ребенок – без признаков обструктивной уропатии. Основную группу больных составили дети с ПМР II–V степени (89 детей – 77,65%) и с мегауретером (5 детей – 4,23%). Максимальное количество детей пришлось на возрастной диапазон от 7 до 10 лет – 64 ребенка (55,65%).

Распределение детей по полу и возрасту

Пол	Всего		Возраст, годы				
			4–6	7–8	9–10	11–12	13–14
	n	%	n	n	n	n	n
Мальчики	49	42,6	16	11	9	6	7
Девочки	66	57,4	20	17	11	13	5
Итого	115	100	36	28	20	19	12

Больным детям наряду с оперативным лечением (94 ребенка с патологией УВС) был проведен диагностический комплекс, направленный на оценку функционального состояния нижних мочевыводящих путей (НМП) и ряда параметров тканевого дыхания.

Всем детям выполнен стандартный комплекс рентген-урологических обследований. Для оценки функционального состояния НМП мы использовали следующие методы: оценка функции МП с помощью таблиц (метод Е.Л. Вишневого, 1996), ритма спонтанных мочеиспусканий, урофлоуметрия, ретроградная цистометрия, ретроградная цистометрия с фармакопробой, морфологическое исследование биопсийного материала МП. Активность дыхательных ферментов лимфоцитов периферической крови оценивали по методу А.Г. Everson Pearse (1957) в модификации Р.П. Нарциссова (1986, 1999). Метод основан на способности п-нитротетразолия фиолетового в процессе ферментативной реакции образовывать нерастворимые в воде круглые гранулы формазана в лейкоцитах и тромбоцитах периферической крови. Об активности фермента в клетке судили по количеству темно-фиолетовых гранул формазана. Для определения активности фермента в популяции лимфоцитов подсчитывали количество гранул в 30–50 клетках, а затем рассчитывали по специальной программе параметры распределения клеток в популяции. Определляли активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ),  $\alpha$ -глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы ( $\alpha$ ГФДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), цитохромоксидазы (ЦО) [8].

Всего проведено 215 исследований: 115 исследований проведено всем детям при поступлении в стационар, 100 исследований проведено 50 детям через 1 и 3 месяца после курса лечения.

### Результаты и их обсуждение

По результатам клинко-лабораторных исследований 50 детям дано заключение о патологии функции МП по гиперактивному типу, у остальных 65 детей выявлен нормаактивный мочевого пузыря (НАМП). У этих детей, по данным анализа табличного метода оценки функции МП, количество набранных баллов было от 9 до 17. По ритму спонтанных мочеиспусканий отмечены увеличение количества микций и снижение объема порций мочеиспусканий, по данным урофлоуметрии – снижение скоростных характеристик тока мочи. В ходе ретроградной цистометрии выявлено снижение эффективного объема МП, низкий объем МП при первом позыве и высокое внутрипузырное давление.

Детям с выявленной патологией МП по гиперактивному типу был проведен курс медикаментозной терапии М-холинолитиком – оксибутинином гидрохлоридом в течение 1 месяца в качестве предоперационной подготовки к коррекции УВС. Положительный клинический эффект отмечался у 27 детей (52%) и выражался в уменьшении количества микций, повышении эффективного объема МП и снижении количества баллов при табличной оценке функционального состояния МП.

В ходе оперативного пособия после вскрытия МП у всех больных проводили забор биопсийного материала (полнослойная стенка МП из одного и того же места) и периферической крови. Интраоперационно проведены 94 биопсии МП и исследований мазков периферической крови для оценки активности дыхательных ферментов в лимфоцитах. Исследования биопсийного материала детрузора проводили для выявления признаков гипоксических изменений его стенки.

При исследовании 94 биопсий, взятых во время оперативной коррекции УВС, получены следующие данные.

У детей с ГАМП и НАМП при микроскопическом исследовании полутонких срезов препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, не выявлено морфологических различий в строении переходного эпителия, собственной пластинки слизистой оболочки, подслизистой основы и мышечной оболочки МП обеих исследованных групп.

При анализе оптических характеристик включений микроконгломератов внутриклеточного кальция отмечены достоверные различия в двух сравниваемых группах по следующим показателям:

- 1) средняя оптическая площадь включений кальция в группе детей с НАМП была достоверно снижена по отношению к группе детей с ГАМП;
- 2) отмечено достоверное снижение таких показателей, как средняя оптическая плотность и интегральная оптическая плотность включений при НАМП и ГАМП соответственно [1, 10–12].

Подобное повышение концентрации кальциевых включений в митохондриях говорит о том, что система транспорта кальция в органеллу переносит последний из окружающего цитозоля чрезвычайно интенсивно, конкурируя с процессами синтеза АТФ. В конечном итоге, пороговая концентрация микроконгломератов кальция внутри органеллы ингибирует синтез АТФ (табл. 2).

## Оптические характеристики включений микроконгломератов кальция

Группы детей	Средняя плотность включений, мкм <sup>2</sup>	Средняя оптическая плотность, ед.	Интегральная оптическая плотность, ед.
НАМП	4,1±0,33	0,09±0,001	13,34±2,5
ГАМП	4,89±0,23*	0,12±0,0086*	18,4±1,14*

Здесь и в табл. 3 и 4: \*p<0,01.

Таблица 3

## Гистохимическое выявление СДГ и ЦО

Группы детей	Площадь гранул формазана, мкм <sup>2</sup>	Средняя оптическая плотность, ед.	Средняя площадь участков активности ЦО, мкм <sup>2</sup>	Средняя яркость, ед.	Средняя оптическая плотность, ед.
НАМП	5,57±0,2	16,83±1,03	3,5±0,23	191,06±0,43	0,13±0,001
ГАМП	5,14±0,28*	18,28±0,86*	4,63±0,26*	173,51±0,4*	0,17±0,001*

Таблица 4

## Результаты исследования митохондриальных ферментов лимфоцитов крови: визуальная оценка СДГ, αГФДГ, ЛДГ

Ферменты	НАМП	ГАМП	Нормативные показатели
СДГ (ср), ед.	20,17±0,41	14,79±0,58*	18–23
αГФДГ, ед.	12,77±0,24	8,21±0,48*	11–14
ЛДГ, ед.	14,18±0,53	14,41±0,52*	10–17

При исследовании активности СДГ получены данные, которые говорят о достоверном ее снижении у детей с ГАМП по сравнению с НАМП. Активность фермента сравнивали по следующим характеристикам: различия в площади гранул формазана, изменения оптической плотности, гетерогенность гистохимической активности СДГ. Гетерогенная гистохимическая активность СДГ выявляется как компенсаторное повышение активности фермента в некоторых клетках на фоне клеток с малоактивным ферментом (табл. 3).

Гистохимическое выявление другого митохондриального фермента – ЦО – не дало ясной картины при исследовании. У детей с ГАМП определялись увеличенные участки гистохимической активности ЦО по сравнению с НАМП. При этом оптические характеристики – средняя яркость уменьшалась, а средняя оптическая площадь увеличивалась в соответствующих группах. Такое явление можно объяснить потерей прочности связей фермента с митохондриальной мембраной и связывание его с какими-то плотными неспецифическими молекулами матрикса (табл. 4).

Результаты цитохимического исследования митохондриальных ферментов лимфоцитов периферической крови позволили выявить нарушение клеточного энергообмена у детей с ГАМП.

При визуальной оценке активности СДГ в лимфоцитах периферической крови у детей мы выявили достоверное снижение ее активности у детей с ГАМП по сравнению с НАМП и с нормативными данными.

Оценка активности фермента αГФДГ показывает также достоверное ее снижение у детей с ГАМП по сравнению с НАМП.

При сравнении активности ЛДГ в двух группах детей мы выявили статистически недостоверное различие: незначительно снижены значения у детей с ГАМП, но в обеих группах показатели не выходят за пределы нормативных возрастных уровней.

Проведенные параллельно морфогистохимические и цитохимические исследования явились основой для клинической интерпретации полученных результатов.

Сравнивая показатели морфогистохимических и цитохимических данных, мы пришли к выводу, что можно достоверно выявить признаки тканевой гипоксии детрузора, исследуя активность дыхательных ферментов лимфоцитов периферической крови [6, 8, 13, 14].

Это легло в основу разработки методов реабилитационной терапии, направленной на улучшение клеточного метаболизма в тканях детрузора. Нами использовались сеансы гипербарической оксигенации (ГБО), фармакологические препараты, улучшающие клеточный метаболизм, а также эти два метода в сочетании (табл. 5).

Дети с ГАМП, получавшие реабилитационную терапию, были разделены на 3 группы в зависимости от проводимой терапии: дети, получавшие только сеансы ГБО; дети, получавшие только метаболическую терапию из-за противопоказаний к сеансам ГБО; дети, получавшие сеансы ГБО и метаболическую терапию.

**Препараты, используемые для повышения активности  
клеточного метаболизма**

Название препаратов	Дозировка	Способ введения	Курс лечения
Янговит	0,5 г 2 р/сут	Per os	1–1,5 мес
Элькар	10–30 кап. 2 р/сут	Per os	до 1,5 мес
Коэнзим Q <sub>10</sub>	500 мг 2 р/сут	Per os	1 мес
Рибофлавин	2–5 мг 2 р/сут	Per os	1 мес
Фолиевая кислота	75–150 мкг 1 р/сут	Per os	1 мес
Цитохром С	5–20 мг 1 р/сут	Внутримышечно и внутривенно	10 дней

По полученным результатам до и после лечения, основанным на данных оценки функции МП с применением анкетирования табличным методом, ритма спонтанных мочеиспусканий, урофлоуметрии, цистометрии, мы видим положительный эффект после проведения курса метаболической терапии.

Наилучшие результаты были получены у детей, которые получали сеансы ГБО в сочетании с донатором энергии цитохромом С. У детей, получавших такую терапию, был наиболее выраженный и стойкий положительный клинический эффект. У детей, получавших только сеансы ГБО, была выраженная положительная динамика, но с менее стойким клиническим эффектом [12, 15, 16]. У детей, получавших только метаболическую терапию, отмечалась наименьшая эффективность лечения среди трех сравниваемых групп.

Гипоксия, обусловленная выявленными нарушениями тканевого дыхания, требует обязательной коррекции. Одним из методов, позво-

ляющих стабилизировать метаболические изменения в клетке и создать благоприятные условия для транспорта кислорода к митохондриям, т.е. воздействовать на третью стадию тканевого дыхания, является ГБО.

На основании полученных результатов мы патогенетически обосновываем применение ГБО в сочетании с фармакологической метаболической терапией в комплексном лечении детей с ГАМП с целью стимуляции кровоснабжения и микроциркуляции в области патологического процесса для увеличения интенсивности обменных и репаративных процессов.

#### Заключение

Таким образом, комплексной подход к оценке состояния уродинамики НМП с позиций системной и регионарной гипоксии, а также адекватная метаболическая терапия позволяют достичь более полной реабилитации и стойкого клинического эффекта у детей с ГАМП и сочетанной патологией.

#### Литература

1. Вишневский Е.Л., Лоран О.Б., Вишневский А.Е., Сухоруков В.С. Митохондриальная недостаточность в патогенезе расстройств мочеиспускания. Материалы I Всероссийской конференции «Клинические и патогенетические проблемы нарушений клеточной энергетики». М., 1999: 20–21.
2. Ростовская В.В., Вишневский Е.Л., Сухоруков В.С. Показатели энергетической дисфункции почечной лоханки и мочеточников у детей с гидронефротической трансформацией. Материалы всероссийского рабочего совещания «Митохондрии в патологии». Пушино: ОНТИ, 2001: 257.
3. Abrams P, Malone-Lee J, Jacquetin B, et al. Twelve-month treatment of overactive bladder: efficacy and tolerability of tolterodine. *Drugs. Aging.* 2001; 18: 551–560.
4. Бакеева Л.Е. Структура и функции митохондрий. Материалы I Всероссийской конференции «Клинические и патогенетические проблемы нарушений клеточной энергетики». М., 1999: 16.
5. Казанцева Л.З., Юрьева Э.А., Николаева Е.А. и др. Основные методы лечения детей, страдающих митохондриальными заболеваниями: Методические указания № 99/160. М.: МЗ РФ, 2001: 1–24.
6. Краснопольская К.Д., Мытникова Е.А., Захарова Е.Ю. и др. Клинический полиморфизм митохондриальных болезней при недостаточности цитохром С оксидазы. *Неврологический журнал.* 1999; 1: 11–16.
7. Князев Ю.А., Краснопольская К.Д., Мытникова Е.А., Петрухин А.С. Митохондриальные болезни. *Вестник РАМН.* 2000; 7: 46–50.
8. Сухоруков В.С., Нарциссов Р.Л., Петричук С.В. и др. Сравнительная диагностическая ценность анализа скелет-

ной мышцы и лимфоцитов при митохондриальных болезнях. *Архив патологии.* 2000; 2 (62): 19–21.

9. Liu B, Tewari AK, Zhang L, et al. Proteomic analysis of protein tyrosine nitration after ischemia reperfusion injury: mitochondria as the major target. *Biochim. Biophys. Acta.* 2009; 1794: 476–485.

10. Cruz F. Up-date in neurourology: treatment modalities. *ESU Course Update on Neuro-Urology,* 2005.

11. Matsutani H, Mizusawa Y, Shimoda M, et al. Partial deficiency of cytochrome C oxidase with isolated proximal renal tubular acidosis and hypercalciuria. *Child Nephrol. Urol.* 1992; 12: 221.

12. Stothers L, Macnab AJ, Shadgan B. Detection of hypoxia and ischemia within the detrusor using near infrared spectroscopy (NIRS). *The Journal of Urology.* 2009; 181 (Issue 4, Suppl.): 600.

13. PheV, Behr-Roussel D, Oger-Roussel S, et al. Involvement of Connexins 43 and 45 in Functional Mechanism of Human Detrusor Overactivity in Neurogenic Bladder. *Urology.* 2013; 81 (Issue 5): 1108.e1–1108.e6.

14. Vijaya G, Digesu GF, Derpapas A, et al. Changes in detrusor muscle oxygenation during detrusor overactivity contractions. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* 2012; 163 (Issue 1): 104–107.

15. Caldeira DE, Souza ME, Gomes MC, et al. Effects of hyperbaric oxygen (HBO), as pre-conditioning in liver of rats submitted to periodic liver ischemia/reperfusion. *Acta Cir. Bras.* 2013; 28 (Suppl. 1): 66–71.

16. Nizet V, Johnson RS. Interdependence of hypoxic and innate immune responses. *Nat. Rev. Immunol.* 2009; 9: 609–617.