

reflux and urinary tract infection in children with a history of prenatal hydronephrosis – should voiding cystourethrography be performed in cases of postnatally persistent grade II hydronephrosis. *J. Urol.* 2009; 181 (2): 801–806.

10. *Mallik M, Watson AR.* Antenatally detected urinary tract abnormalities: more detection but less action. *Pediatr. Nephrol.* 2008; 23 (6): 897–904.

11. *Mohan N, Colhoun E, Puri P.* Renal parenchymal damage in intermediate and high grade infantile vesicoureteral reflux. *J. Urol.* 2008; 180 (Suppl. 4): 1635–1638.

12. *Moffat DB.* Experimental intrarenal reflux and blood pressure. *Br. J. Exp. Pathol.* 1977; 58 (6): 717–724.

13. *Rolleston GL, Maling TM Jr, Hodson CJ.* Intrarenal reflux and the scarred kidney. *Arch. Dis. Child.* 1974; 49 (7): 531–539.

14. *Minevich E, Wacksman J, Lewis AG, Sheldon CA.* Incidence of contralateral vesicoureteral reflux following unilateral extravesical detrusorrhaphy (ureteroneocystostomy). *J. Urol.* 1998; 159 (6): 2126–2128.

© Коллектив авторов, 2014

*Н.М. Зайкова<sup>1,2</sup>, В.В. Длин<sup>1</sup>, Л.А. Синуцына<sup>3</sup>, А.А. Корсунский<sup>4</sup>, Ш.Г. Гацкан<sup>3</sup>*

## МАРКЕРЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ФИБРОГЕНЕЗА У ДЕТЕЙ С ПУЗЫРНО-МОЧЕТОЧНИКОВЫМ РЕФЛЮКСОМ

<sup>1</sup>Научно-исследовательский клинический институт педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, Москва; <sup>2</sup>ГБУЗ ДГКБ № 9 им. Г.Н. Сперанского, Москва; <sup>3</sup>Институт матери и ребенка, г. Кишинев, Молдова; <sup>4</sup>кафедра педиатрии и инфекционных болезней педиатрического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, РФ

*Zaykova N.M.<sup>1,2</sup>, Dlin V.V.<sup>1</sup>, Sinitsyna L.A.<sup>3</sup>, Korsunskiy A.A.<sup>4</sup>, Gatskan Sh.G.<sup>3</sup>*

## MARKERS OF DETERMINATION OF THE DEGREE OF FIBROGENESIS IN CHILDREN WITH VESICOURETERAL REFLUX

<sup>1</sup>Moscow Research Clinical Institute of Pediatrics of Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU); <sup>2</sup>Speransky Moscow Children's Hospital № 9 of the Research Institute of Pediatric Surgery of Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU); <sup>3</sup>Institute of Mother and Child Care, Kishinev, Moldova; <sup>4</sup>Department of Pediatrics and Communicable Diseases, Faculty of Pediatrics of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russia

Определяли мочевую экскрецию ангиотензина II (AngII) и трансформирующего фактора роста  $\beta 1$  (TGF $\beta 1$ ) для выявления их значения в качестве маркеров степени выраженности повреждения почечной ткани при пузырно-мочеточниковом рефлюксе (ПМР) у детей. В группу исследования был включен 71 ребенок с различной степенью ПМР в возрасте от 1 года до 14 лет (средний возраст  $5,26 \pm 0,64$  лет), из них 52 девочки (73,2%). По данным ДМСА-сцинтиграфии дети были разделены на 3 группы: 2-я группа – пациенты с ПМР без рефлюкс-нефропатии (РН) (n=9), 3-я группа – дети с легкой (I–II) степенью РН (n=41), 4-я группа – пациенты с тяжелой (III–IV) степенью РН (n=21). Контрольную группу (1-я группа) составили здоровые дети (n=20) без почечной патологии в анамнезе. Установлено достоверное повышение уровня AngII и TGF $\beta 1$  в моче у всех больных с ПМР по сравнению с группой контроля. При тяжелой степени РН мочевой уровень AngII и TGF $\beta 1$  был достоверно выше, чем при легкой степени РН, что подтверждает их связь с выраженностью склеротических процессов в тубулоинтерстициальной ткани. Следовательно, данные цитокины могут быть использованы в качестве маркеров тяжести фибротических процессов в почечной ткани при ПМР.

**Ключевые слова:** дети, пузырно-мочеточниковый рефлюкс, рефлюкс-нефропатия, трансформирующий фактор роста  $\beta 1$ , ангиотензин II.

### Контактная информация:

**Зайкова Наталья Михайловна** – к.м.н., докторант НИКИ педиатрии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, врач-нефролог отделения нефрологии ГБУЗ ДГКБ № 9 им. Г.Н. Сперанского  
**Адрес:** Россия, 123317 г. Москва, Шмидтовский проезд, 29/1  
**Тел.:** (499) 256-61-34, **E-mail:** nataliazaikova@mail.ru  
Статья поступила 26.01.15, принята к печати 28.01.15.

### Contact information:

**Zaykova Natalya Mikhailovna** – Ph.D., Doctoral Associate with Moscow Research Clinical Institute of Pediatrics of Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU); Physician Nephrologist of the Division of Nephrology of Speransky Moscow Children's Hospital № 9 of the Research Institute of Pediatric Surgery of Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU)  
**Address:** Russia 123317 Moscow, Shmitovskiy proezd, 29/1  
**Tel.:** (499) 256-61-34, **E-mail:** nataliazaikova@mail.ru  
Received on Jan. 26, 2015; submitted for publication on Jan. 28, 2015.

The authors have measured the urinary excretion of angiotensin II (AngII) and transforming growth factor beta 1 (TGF $\beta$ 1) in order to determine their values as markers of the severity of damage to the kidney tissue with vesicoureteral reflux (VUR) in children. The study group included 71 children with varying degrees of VUR aged from 1 year to 14 years old (mean age 5,26 $\pm$ 0,64 years old), including 52 girls (73,2%). According to the DMSA scintigraphy, the children were divided into 3 groups: group 2 – patients with VUR and without reflux nephropathy (RN) (n=9); group 3 – children with mild (I–II) degree of RN (n=41); group 4 – patients with severe (III–IV) degree of RN (n=21). The control group (group 1) consisted of healthy children (n=20) without renal disease in history. There was a significant increase in the level of AngII and TGF $\beta$ 1 in the urine of all patients with VUR established, compared with the control group. In the severe RN the urinary level of AngII and TGF $\beta$ 1 was significantly higher than in the mild RN, confirming their relationship with the severity of sclerotic processes in tubulointerstitial tissues. Therefore, these cytokines can be used as markers for the severity of fibrotic processes in the kidney tissue with VUR.

**Key words:** children, vesicoureteral reflux, reflux nephropathy, transforming growth factor  $\beta$ 1, angiotensin II.

Проблема пузырно-мочеточникового рефлюкса (ПМП) и рефлюкс-нефропатии (РН) не новая, тем не менее остается много нерешенных вопросов, особенно в разработке технологий ранней диагностики повреждения почечной ткани, т.е. выявление развития РН у детей с ПМП на ранней стадии, что важно для определения тактики ведения пациентов. Не менее важным вопросом является и определение степени выраженности нефросклероза у этих пациентов [1–4].

В последние годы лабораторная служба обогатилась рядом новых диагностических тестов, которые могут быть использованы в качестве ранних маркеров повреждения почек, что позволит оптимизировать тактику лечения и контролировать его эффективность [4–6]. Любое повреждение почечной ткани за счет гипоксии, обструкции или инфекции приводит к продукции различных медиаторов воспаления (провоспалительных цитокинов и факторов роста), которые способствуют усиленному притоку лейкоцитов в область повреждения, формированию и последующему поддержанию воспалительного инфильтрата [7, 8].

В литературе недостаточно освещен вопрос о роли ангиотензина II (AngII) в патогенезе фиброгенеза при различных типах нефропатий, в частности при РН [9–11]. Являясь основным про-фиброгенным фактором, инициирующим и поддерживающим процессы фибриллогенеза, AngII повышает синтез трансформирующего фактора роста (TGF $\beta$ 1), который стимулирует пролиферацию клеток и образование соединительной ткани [10–15].

Поэтому изучение уровня TGF $\beta$ 1 и AngII в моче позволит установить их клиническое значение в качестве неинвазивных маркеров раннего выявления и выраженности повреждения почечной ткани при ПМП, что определяет актуальность исследования.

Цель исследования: установить значение определения мочевой экскреции AngII и TGF $\beta$ 1 для ранней диагностики и степени выраженности фибротических процессов в почечной ткани у детей с ПМП.

#### Материалы и методы исследования

В исследование был включен 71 пациент с различной степенью ПМП в возрасте от

1 года до 14 лет (средний возраст 5,69 $\pm$ 0,44 лет), из них 52 девочки (73,2%), которые находились на обследовании в отделениях нефрологии и урологии Института матери и ребенка (г. Кишинев, Молдова, директор – к.м.н., доцент Ш.Г. Гацкан).

Всем больным было проведено комплексное обследование, которое включало ультразвуковое исследование (УЗИ) органов мочевой системы, УЗИ-доплер почек, микционную цистографию, экскреторную урографию и динамическую нефросцинтиграфию, клинические анализы крови и мочи, определяли уровень мочевины и креатинина в крови, скорость клубочковой фильтрации по формуле Шварца, изучали концентрационную функцию почек в пробе Зимницкого и проводили бактериологическое исследование мочи.

Степень ПМП оценивали по результатам микционной цистографии согласно принятой в 1985 г. Международной классификации ПМП [16].

Для выявления РН и определения ее степени всем детям с ПМП была проведена статическая нефросцинтиграфия с ДМСА (димеркапто-сукцининовая кислота) в отделении ядерной медицины (зав. отделения – В.В. Карецкая) Республиканской клинической больницы, но не ранее чем через 3 месяца после последнего эпизода инфекции мочевой системы. Степень РН определяли согласно классификации А. Piersz и соавт. [17]: I степень – 1–2 рубца, II степень – 2–3 рубца с сохранной почечной паренхимой, III степень – очагово-диффузное распространение склеротических очагов с сохраненным почечным контуром, IV степень – «маленькая» или атрофированная почка.

В зависимости от наличия и степени выраженности РН дети были разделены на 3 группы: в группу детей с ПМП без РН (2-я группа) вошли 9 детей (средний возраст 1,78 $\pm$ 0,36 лет, один мальчик и 8 девочек), у которых по данным ДМСА-сцинтиграфии отсутствовали очаги склероза; 3-я группа – I–II степени РН (легкая) – был включен 41 пациент (средний возраст 6,17 $\pm$ 0,55 лет, 7 мальчиков и 34 девочки) и 4-я группа – III–IV степени РН (тяжелая) – 21 пациент (средний возраст 6,43 $\pm$ 0,86 лет, 11 мальчиков и 10 девочек). Контрольную группу (1-я группа) составили 20 практически здоровых детей (8 мальчиков и 12 девочек, средний возраст 6,24 $\pm$ 0,31 лет) без почечной патологии в анамнезе и на момент включения в исследование.

В утренней моче определяли уровни AngII и

TGFβ1 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) в биохимической лаборатории Государственного медицинского университета Н. Тестимицану (зав. лаб. проф. В. Гудумак). Уровень AngII и TGFβ1 в моче пересчитывали на содержание (в ммоль) креатинина в данной порции мочи (нг/ммоль креатинина). Все дети на момент исследования мочевых уровней AngII и TGFβ1 находились в клинко-лабораторной ремиссии инфекции мочевой системы (пиелонефрита).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica for Windows 6.0 с определением  $\chi^2$ , корреляционного анализа. Достоверными считали различия показателей 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%) ( $\chi^2=1,97$ ,  $p > 0,05$ ).

По данным статической нефросцинтиграфии с ДМСА, РН выявлена у 62 (87,3%) детей с различной степенью ПМР, у 9 (12,6%) детей РН не определялась.

При ПМР III–IV степени достоверно чаще, чем при ПМР I–II степени выявлялась РН III–IV степени ( $p < 0,05$ ), достоверной разницы в обнаружении РН I–II степени между группами выявлено не было (рис. 1).

У 12 (16,9%) детей с ПМР различной степени выраженности было выявлено уменьшение размеров почек (синдром маленькой почки), которое достоверно чаще наблюдалось в группе детей с тяжелой РН, чем с легкой (42,8 и 7,3% соответственно) ( $\chi^2=12,08$ ,  $p < 0,01$ ). У 57 больных с ПМР (80,3%) отмечалось повышение экзогенности почечной паренхимы за счет уплотнения ее структуры ( $\chi^2=17,12$ ,  $p < 0,05$ ).

Активность инфекции мочевой системы (ИМС) на момент обследования определялась более чем у  $2/3$  (69%) пациентов, причем у детей с РН I–II степени в 68,3% случаев и в 76,2% – при РН III–IV степени ( $\chi^2=1,28$ ,  $p > 0,05$ ).

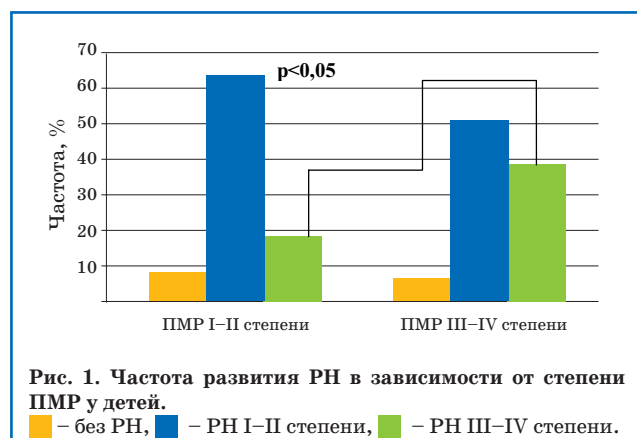


Рис. 1. Частота развития РН в зависимости от степени ПМР у детей.  
■ – без РН, ■ – РН I–II степени, ■ – РН III–IV степени.

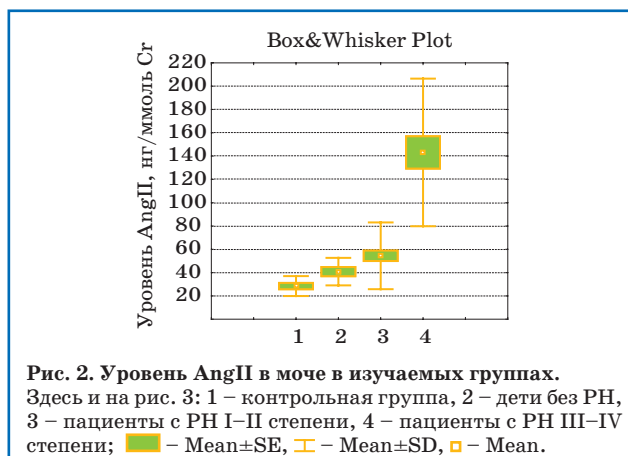


Рис. 2. Уровень AngII в моче в изучаемых группах. Здесь и на рис. 3: 1 – контрольная группа, 2 – дети без РН, 3 – пациенты с РН I–II степени, 4 – пациенты с РН III–IV степени; ■ – Mean±SE, ■ – Mean±SD, □ – Mean.

У детей без РН лейкоцитурия встречалась в 55,6% случаев ( $\chi^2=5,26$ ,  $p < 0,05$ ). Средний уровень лейкоцитурии у детей с ПМР составил  $40,67 \pm 11,7$  в п/зр., у детей без РН –  $22,46 \pm 7,88$  в п/зр., в группе детей с РН I–II степени –  $55,77 \pm 36,0$  в п/зр., а при РН III–IV степени –  $69,76 \pm 33,0$  в п/зр. ( $p > 0,05$  соответственно).

В посевах мочи урокультура высевалась только в 42,3%. В урокультуре было установлено преобладание *Esherihia coli* – в 80,2% случаев, *Streptococcus epidermidis* – 2,8%, *Enterococcae* – 5,6%, *Klebsiella pneumoniae* – 8,6%, *Proteus mirabilis* – 2,8%.

Все дети с активной ИМС получали антибактериальную терапию  $12,5 \pm 1,2$  дня с выходом в ремиссию.

Средний уровень AngII в моче у детей с РН I–II степени был повышен в 2 раза ( $p < 0,05$ ), а при РН III–IV степени – в 5,1 раза по сравнению с группой контроля ( $p < 0,01$ ). Мочевой уровень AngII при тяжелой степени РН был достоверно выше ( $143,15 \pm 13,8$  нг/ммоль Cr,  $p < 0,001$ ), чем в группе детей с легкой степенью РН (рис. 2).

Больные с ПМР без РН имели более низкий уровень AngII в моче, чем дети с РН I–II степени ( $40,84 \pm 3,9$  и  $54,4 \pm 4,5$  нг/ммоль Cr соответственно,  $p > 0,05$ ), но существенно превышали показатели контрольной группы ( $28,4 \pm 2,7$  нг/ммоль Cr,  $p < 0,05$ ) (рис. 2).

Наиболее высокая мочевая экскреция TGFβ1 выявлена у детей с тяжелой степенью РН ( $381,18 \pm 28,2$  нг/ммоль Cr), что почти в 2 раза выше, чем при легкой степени РН ( $165,97 \pm 35,5$  нг/ммоль Cr,  $p < 0,001$ ). Мочевой уровень TGFβ1 у пациентов с ПМР без РН был достоверно ниже, чем у больных с выраженными признаками тубулоинтерстициального повреждения ( $147,32 \pm 12,55$  и  $381,18 \pm 28,2$  нг/ммоль Cr соответственно,  $p < 0,05$ ), и несколько выше, чем в контрольной группе ( $107,51 \pm 24,35$  нг/ммоль Cr,  $p > 0,05$ ) (рис. 3).

В контрольной группе верхними границами нормы ( $M \pm 18$ ) для AngII/Cr и TGFβ1/Cr были значения 37 и 185,4 нг/ммоль Cr соответственно. Частота повышенного уровня AngII/Cr в моче у детей без РН составила 0,89, при РН I–II степени – 0,68 и при РН III–IV степени – 1 (табл. 1). Частота повышенного мочевого уровня TGFβ1/Cr была ниже и в группе детей без РН составила

Таблица 1

**Частота повышенного мочевого уровня цитокинов у детей обследуемых групп**

Группы больных	AngII		TGFβ1	
	абс.	q	абс.	q
Без РН (n=9)	8	0,89	1	0,11
РН I-II степени (n=41)	28	0,68	11	0,27
РН III-IV степени (n=21)	21	1,0	20	0,95
Итого (n=71)	57	0,81	32	0,46

Таблица 2

**Частота снижения СКФ в обследуемых группах**

Группы больных	Абс.	q
Без РН (n=9) (1)	0	0
РН I-II степени (n=41) (2)	5	0,12
РН III-IV степени (n=21) (3)	11	0,52
Итого (n=71)	16	0,23
P <sub>1-2</sub>	>0,05	
P <sub>1-3</sub>	<0,01	
P <sub>2-3</sub>	<0,05	

У 42 (68,8%) детей по данным пробы Зимницкого была выявлена нормостенурия, в т.ч. у всех 9 детей без РН, у 25 (0,81) – с легкой степенью РН и у 8 (0,38) с тяжелой степенью РН. Гипостенурия была выявлена у 19 (0,31) детей с РН, в т.ч. у 6 детей (0,19) с I-II степенью РН и у 13 (0,62) детей с тяжелой степенью РН (табл. 3).

Мочевой уровень AngII и TGFβ1 был достоверно выше у детей с гипостенурией (142,8±8,1

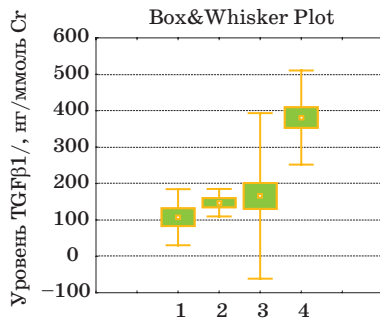


Рис. 3. Мочевой уровень TGFβ1 в изучаемых группах.

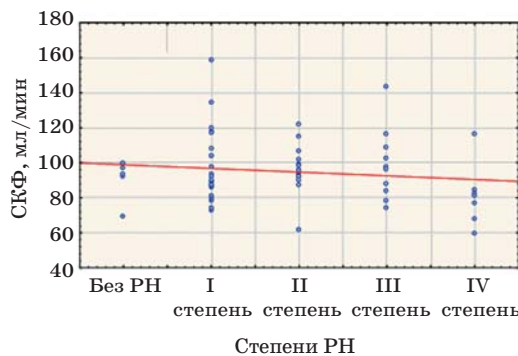


Рис. 4. Средний уровень СКФ у детей в зависимости от степени РН.

0,11, при РН I-II степени – 0,27 и при РН III-IV степени – 0,95.

Установлена средней силы положительная корреляционная связь степени тяжести РН с мочевыми уровнями AngII/Cr ( $r=0,63$ ,  $p<0,05$ ) и TGFβ1/Cr ( $r=0,59$ ,  $p<0,05$ ).

Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) у больных с ПМР в целом по группе составила  $94,02 \pm 1,97$  мл/мин/ $1,73$  м<sup>2</sup>, в т.ч. у детей без РН –  $100,96 \pm 2,78$  мл/мин/ $1,73$  м<sup>2</sup>, с РН I-II степени –  $96,63 \pm 2,85$  мл/мин/ $1,73$  м<sup>2</sup> ( $p<0,05$  между РН I-II степени и РН III-IV степени). В группе детей с тяжелой степенью РН уровень СКФ был отмечен на уровне  $87,06 \pm 3,27$  мл/мин/ $1,73$  м<sup>2</sup> ( $p<0,01$  между детьми без РН и тяжелой степенью РН) (рис. 4).

Установлено, что частота нарушения СКФ зависит от степени почечного повреждения. Снижение СКФ наблюдалось достоверно чаще у детей с РН III-IV степени – 52% (при РН I-II степени – 12,2%,  $p<0,01$ ) (табл. 2).

У больных со сниженной СКФ (менее 90 мл/мин) мочевого уровень AngII ( $132,43 \pm 9,5$  нг/ммоль Сг) и TGFβ1 ( $324,83 \pm 37,8$  нг/ммоль Сг) был достоверно выше ( $p<0,05$ ), чем у детей с нормальной СКФ ( $59,18 \pm 3,4$  и  $212,63 \pm 12,1$  нг/ммоль Сг соответственно) и в контрольной группе ( $28,4 \pm 2,7$  и  $107,51 \pm 24,4$  нг/ммоль Сг соответственно,  $p<0,05$ ) (рис. 5 и 6). Наиболее значимые различия между детьми с нормальной и сниженной СКФ наблюдались по уровню мочевого экскреции AngII (в 2,2 раза).

У 61 пациента с ПМР (85,9%) проведено сопоставление мочевого экскреции AngII/Cr и TGFβ1/Cr с концентрационной функцией почек (по данным пробы Зимницкого).

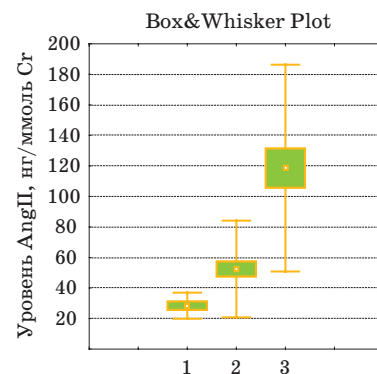


Рис. 5. Уровень AngII в зависимости от СКФ.

Здесь и на рис. 6: 1 – контрольная группа, 2 – дети со СКФ >90 мл/мин, 3 – дети со СКФ <90 мл/мин; ■ – Mean±SE, □ – Mean±SD, ○ – Mean.

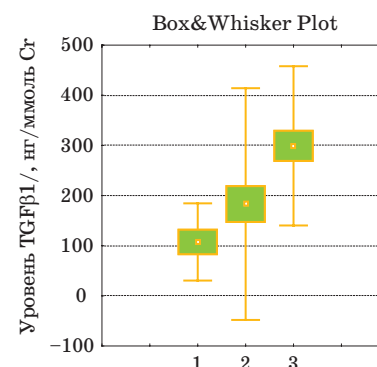


Рис. 6. Мочевой уровень TGFβ1 в зависимости СКФ.

Таблица 3

**Частота снижения концентрационной функции почек в пробе Зимницкого в обследуемых группах**

Группы больных	Абс.	q
Без РН (n=9) (1)	0	0
РН I–II степени (n=41) (2)	5	0,19
РН III–IV степени (n=21) (3)	11	0,62
Итого (n=71)	16	0,31
$P_{1-2}$	>0,05	
$P_{1-3}$	<0,01	
$P_{2-3}$	<0,05	

и  $381,7 \pm 27,4$  нг/ммоль Cr соответственно,  $p < 0,05$ ), чем у детей с нормостенурией ( $66,7 \pm 6,6$  и  $202,23 \pm 23$  нг/ммоль Cr,  $p < 0,05$ ). В обеих группах уровень AngII и TGFβ1 был достоверно выше по сравнению с группой контроля (рис. 7 и 8). Наиболее значимые различия между детьми с нормальной и сниженной концентрационной функцией почек наблюдались по уровню мочевой экскреции AngII (в 2,1 раза). Несомненно, что различия в мочевом уровне AngII и TGFβ1 зависели от тяжести повреждения почек: так, в группе детей с нормостенурией частота детей с III–IV степенями РН составляла 19%, тогда как в группе детей с гипостенурией – 68,4% ( $p < 0,01$ ).

Следовательно, чем больше была нарушена концентрационная функция почек, а значит и выше степень повреждения тубулоинтерстициальной ткани, тем более высокий уровень AngII и TGFβ1 определялся в моче.

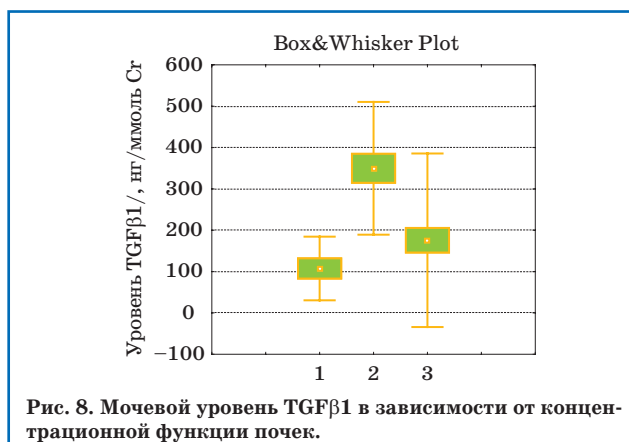
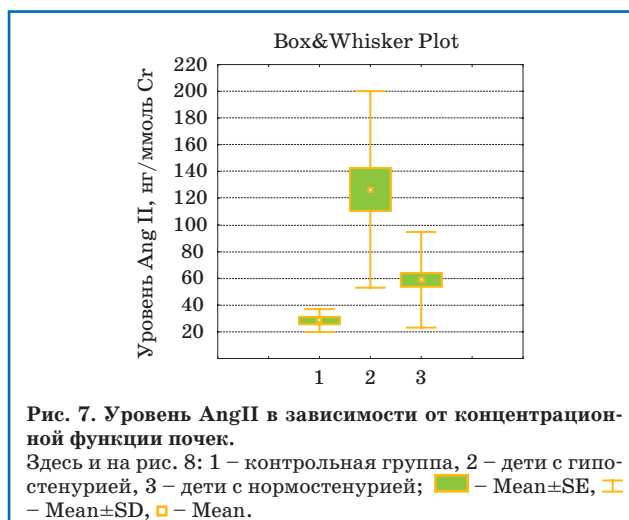
### Обсуждение

По данным литературы, у 30–60% детей с ПМР диагностируется РН, которая может наблюдаться как при инфицированном, так и неинфицированном ПМР [18–20]. При ИМС на фоне ПМР бактериальная адгезия к клеткам нефротелия приводит к перегрузке и дисфункции мезангиальных клеток и канальцевого эпителия, нарушаются почечное кровообращение и развитие почечной ишемии. Гиперперфузия, следующая за ишемией, приводит к повышению продукции токсичных кислородных радикалов и биологически активных веществ – цитокинов и факторов роста, в т.ч. TGFβ1 и AngII, что увеличивает зону почечного поражения [5, 21, 22]. Экспериментальные исследования показали возможность развития РН и при неинфицированном ПМР, где основным звеном патогенеза развития РН является ишемия, развивающаяся вследствие уродинамических нарушений [23–28]. Формирование очагового нефросклероза при инфицированном и неинфицированном ПМР имеет этапность с формированием вначале воспалительных очагов с пролиферацией фибробластов, а затем с формированием склеротических изменений паренхимы почек с вовлечением в процесс всего нефрона [27–29]. J.M. Fan и соавт. [30], Т. Maruyama и соавт. [31] в эксперимен-

тальных исследованиях обнаружили еще один путь, способствующий развитию интерстициального фиброза – трансформацию тубулярных эпителиальных клеток в миофибробласты под дозозависимым воздействием TGFβ1.

В представленном исследовании частота развития РН у детей с ПМР составила 87,3%, причем ИМС была диагностирована у 49 (69%) пациентов. Выявлена связь мочевого уровня AngII и TGFβ1 с развитием и тяжестью РН, с функциональным состоянием почек, что указывает на роль этих цитокинов в развитии и прогрессировании фибротических процессов в почечной ткани.

Сходные данные были представлены А. Gawlowska–Marciniak и соавт. [32], которые установили, что TGFβ1 является значимым медиатором воспаления и фиброгенеза у больных при нарушениях уродинамики, отражающим степень повреждения почечной паренхимы. Авторы отметили, что исследование в разовых порциях мочи уровней медиаторов воспаления и TGFβ1 целесообразно использовать в качестве дополнительных диагностических маркеров формирования и прогрессирования хронического воспалительного процесса у детей. Поскольку поврежденные проксимальные канальцы являются основным источником факторов роста в моче, значительное повышение мочевого уровня AngII указывает на обширность повреждения почечной ткани и усиленную пролиферацию фибробластов с разрастанием соединительной ткани, что объясняет их корреляцию с тяжестью РН [6, 33].



Полученные нами данные также показали высокое клиническое значение определения мочевого уровня AngII и TGFβ1 для верификации тяжелых степеней фиброгенеза у детей с ПМР. Так, значительно повышенный мочевой уровень обоих цитокинов выявляется примерно с одинаковой частотой (1 и 0,95 соответственно) практически у всех детей с РН III–IV степени.

Сходные данные были получены и А. Sabasinsca и соавт. [34], которые также обнаружили высокую прямую корреляционную связь между мочевой экскрецией TGFβ1 у детей с ПМР, с тяжестью самого рефлюкса и с почечным повреждением.

Наши результаты согласуются также и с данными Д.Ю. Лакомовой [35], где исследования биомаркеров повреждения почечной паренхимы в моче показали, что уровень TGFβ1 повышался с увеличением степени и длительности существования ПМР, отражая интенсивность лимфоноцитарной инфильтрации почечной паренхимы.

Чувствительность определения мочевого уровня AngII для верификации тяжелых степеней РН составила 100%, а специфичность – 11%, тогда как для TGFβ1 – 95 и 89% соответственно.

В целом чувствительность и специфичность выявления РН по мочевому уровню AngII и TGFβ1 невысоки и составили соответственно для AngII 79 и 11%, а для TGFβ1 – 50 и 89%.

Установлено, что у большинства пациентов с ПМР, у которых по данным нефросцинтиграфии не была верифицирована РН (табл. 1), отмечался повышенный мочевой уровень AngII (0,89), но не TGFβ1 (0,11). Вероятно, что повышенный мочевой уровень AngII связан с формированием склеротических процессов в почечной ткани у детей с ПМР, которые не удается пока выявить при нефросцинтиграфии. Подтверждением этому являются данные, представленные Т.В. Лепаевой [1], которая показала, что при длительном катамнезе за пациентами с ПМР, у которых не было при первичном обследовании зафиксировано по данным нефросцинтиграфии наличие признаков нефросклероза, через 2 года при контрольном обследовании было выявлено формирование РН у всех детей.

Кроме того, повышение мочевого уровня профиброгенных цитокинов у детей с ПМР, у которых по данным ДМСА-сцинтиграфии не было выявлено очагов склероза, возможно, обусловлено тем, что на начальном этапе происходят усиленная инфильтрация почечного интерстиция макрофагами и лимфоцитами, пролиферация фибробластов, повышение продукции провоспалительных и профиброгенных цитокинов с последующим формированием очагового нефросклероза [36–39].

Чувствительность мочевого уровня AngII для выделения пациентов с повышенным риском формирования РН составила 89%, а специфичность – 100%, тогда как для TGFβ1 – 11 и 100% соответственно. Следовательно, выявление повышенного мочевого уровня AngII у детей с ПМР, но не имеющих РН по данным нефросцинти-

графии, вероятно, указывает на высокий риск формирования нефросклероза. Кроме того, более чем у  $2/3$  детей с легкими степенями РН выявлялся повышенный мочевой уровень AngII.

Эти данные показывают, что определение повышенного мочевого уровня AngII у детей с ПМР может служить как ранним критерием развития склеротических процессов в тубулоинтерстициальной ткани, так и отражает тяжесть РН [40]. Однако определение мочевого уровня TGFβ1 более специфично для диагностики тяжелых степеней РН.

Индивидуальный анализ показателей мочевого уровня AngII позволил выделить пограничный уровень равный 57 нг/ммоль Cr, при котором с высокой вероятностью у пациента имеет место РН тяжелой степени (чувствительность и специфичность составили соответственно 100 и 52%).

Индивидуальный анализ показателей мочевого уровня TGFβ1 позволил выделить пограничный уровень равный 200 нг/ммоль Cr, при котором с высокой вероятностью у пациента имеет место РН тяжелой степени (чувствительность и специфичность составили соответственно 100 и 76%).

Суммируя полученные данные, можно предположить, что одним из важных звеньев патогенеза формирования РН у больных детей с ПМР являются активация фибробластов и повышенная продукция профиброгенных цитокинов и факторов роста. Установленная прямая корреляционная связь между уровнем мочевого экскреции TGFβ1 и AngII и степенью тяжести РН у больных с ПМР свидетельствует о целесообразности и перспективности их включения в качестве маркеров тяжести РН.

## Выводы

1. У 87,3% детей с ПМР выявлено формирование РН различной степени тяжести. В группе детей без РН возраст был достоверно ниже и в возрасте до 2 лет было более чем  $3/4$  пациентов (77,7%), тогда как среди пациентов с РН дети в возрасте до 2 лет встречались значительно реже (25,8%), что свидетельствует о важности длительности нарушения уродинамики на формирование РН.

2. Почти у всех больных с ПМР, осложненным РН III–IV степени, отмечено повышение в моче уровня AngII и TGFβ1, что позволяет использовать данные цитокины в качестве маркеров тяжелых форм РН. Наиболее чувствительным и специфичным маркером тяжелой формы РН является мочевой уровень TGFβ1 (95 и 89%, соответственно). Значения TGFβ1 200 нг/ммоль Cr и более характерны для тяжелых степеней РН.

3. Определение мочевого уровня AngII пациентов с ПМР позволяет диагностировать как ранние стадии РН, так и выявлять пациентов с высоким риском формирования РН (чувствительность 89%, специфичность 100%), что обосновывает как их углубленное обследование, так и использование ренопротективной терапии на ранних стадиях заболевания.

4. Установленная положительная корреляционная связь между мочевиной экскрецией AngII и TGFβ1 и степенью тяжести тубулоинтерстициального повреждения у детей с ПМР свидетельствует о возможности их использования как в качестве маркеров тяжести нефросклероза, так и для динамического наблюдения за пациентами с РН.

ствует о возможности их использования как в качестве маркеров тяжести нефросклероза, так и для динамического наблюдения за пациентами с РН.

## Литература

1. Ленаева Т.В. Критерии ранней диагностики и прогнозирования рефлюкс-нефропатии у детей и оптимизация лечения: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2013: 27.
2. Peters C, Rushton HG. Vesicoureteral reflux associated renal damage: congenital reflux nephropathy and acquired renal scarring. *J. Urol.* 2010; 184 (1): 265–273.
3. Montini G, Rigon L, Zucchetto P, et al. Prophylaxis after first febrile urinary tract infection in children? A multicenter, randomized, controlled, noninferiority trial. *Pediatrics.* 2008; 122: 1064–1071.
4. Coulthard MG. Vesicoureteric reflux is not a benign condition. *Pediatric Nephrology.* 2009; 24 (2): 227–232.
5. Hussein A, Askar E, Elsaied 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.
6. 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.
7. Massanyi EZ, Preece J, Gupta A, Lin SM, et al. Utility of screening ultrasound after first febrile UTI among patients with clinically significant vesicoureteral reflux. *Urology.* 2013; 82 (4): 905–910.
8. Giovanni M, Kjell T, Hewitt I. Febrile Urinary Tract Infections in Children. *New Engl. J. of Medicine.* 2011; 365: 239–250.
9. Lee RS. Biomarkers for paediatric urological disease. *Curr. Opin. Urol.* 2009; 19 (4): 397–401.
10. Liang XL, Shi W, Hong Kong J. Beyond Early Diagnosis: Prognostic Biomarkers for Monitoring Acute Kidney Injury. *Nephrol.* 2010; 12 (2): 45–49.
11. Chertin B, Rolle U, Cascio S. Upregulation of angiotensin II receptors in reflux nephropathy. *Pediatr. Surg.* 2002; 37 (2): 251–255.
12. Ruiz-Ortego M, Lorenzo O, Suzuki Y, Ruperes M. Proinflammatory actions of angiotensin II. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2001; 10: 321–329.
13. Klabr S, Morrissey J. The role of vasoactive compounds, growth factors and cytokines in the progression of renal disease. *Kidney Int.* 2000; 57 (75): 7–14.
14. Sandberg K, Ji H. Kidney angiotensin receptors and their role in renal pathophysiology. *Semin. Nephrol.* 2000; 20: 402–416.
15. Morales MG, Vazquez Y, Acuna 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.
16. 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.
17. Piepsz A, Colarinha P, Gordon I, Hahn K. Paediatric Committee of the European Association of Nuclear Medicine. Guidelines for 99-mTc-DMSA scintigraphy in children. *Eur. J. Nucl. Med.* 2001; 28: BP37–BP41.
18. Bundy DG, Serwint JR. Vesicoureteral Reflux. *Pediatr. Rev.* 2007; 28: 6–8.
19. Moorthy I, Easty M, McHugh K, et al. The presence of vesicoureteric reflux does not identify a population at risk for renal scarring following a first urinary tract infection. *Archives of Disease in Childhood.* 2005; 90: 733–736.
20. Sweeney B, Cascio S, Velayudham M, Pui P. Reflux nephropathy in infancy: a comparison of infants presenting with and without urinary tract infection. *J. Urol.* 2001; 166 (2): 648–650.
21. Паунова С.С., Петричук С.В., Кучеренко А.Г., Смирнов И.Е. Медиаторы воспаления и фиброгенеза у детей грудного возраста с инфекцией мочевой системы. *Педиатрия.* 2008; 87 (3): 17–22.
22. Меркоданова Ю.А., Утц И.А. Цитокиновый профиль мочи при различных этиопатогенетических вариантах хронического пиелонефрита у детей. *Саратовский научно-медицинский журнал.* 2011; 7 (4): 901–904.
23. Зайкова Н., Давид В., Нигуляну Р., Чевдарь Н., Недбайло Е. Некоторые клиничко-морфологические особенности абактериальной рефлюкс-нефропатии при моделированном стенозе уретры у крыс. *Cuiregul Medical.* 2010; 1: 65–71.
24. Zaicova N, David V, Petrovici V, Orleno I, Stratulat P. The development of interstitial fibrosis after bacterial pyelonephritis in rats. 44rd Annual Scientific Meeting of the European Society for Paediatric Nephrology, 14–17 September 2011. Croatia, Dubrovnic, 2011: 1725–1726.
25. Зайкова Н., Петрович В., Синицина Л., Нигуляну Р., Стратулат П. Динамика морфологических изменений в почках у крыс при инфекции мочевых путей. *Cuiregul Medical.* 2012; 1: 10–16.
26. Зайкова Н., Длин В., Давид В., Петрович В. Динамика патологических изменений в паренхиме почек при инфицированном и неинфицированном пузырно-мочеточниковом рефлюксе у крыс (экспериментальное исследование). *Клиническая нефрология.* 2011; 5: 1–14.
27. Tevull TG, Working PK, Cbow CP, Green JD. Pathology of recombinant human Transforming Growth Factor-b1 in rats and rabbits. *Int. Rew. Exp. Pathol.* 1993; 51: 3590–3594.
28. Margetts PJ, Hoff C, Liu L. Transforming growth factor β-induced peritoneal fibrosis is mouse strain dependent. *Oxford Journals Medicine Nephrology Dialysis Transplantation.* 2012; 28 (8): 2015–2027.
29. Farmaki E, Winn RM, Parachristou F, Sotiriou J. Transforming Growth Factor-b1 in the urine of young children with urinary tract infection *Pediatric Nephrology.* 2005; 20 (2): 180–183.
30. Fan JM, Ng YY, Hill PA, et al. Transforming growth factor-beta regulates tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation in vitro. *Kidney Int.* 1999; 56 (4): 1455–1467.
31. Maruvama T, Hayashi Y, Nakane A, Sasaki S, Kohri K. Intermittent pressure-loading increases transforming growth factor beta-1 secretion from renal tubular epithelial cells: in vitro vesicoureteric reflux model. *Urol. Int.* 2005; 75: 150–158.
32. Gawlowska-Marciniak A, Niedzielski JK. Evaluation of TGFβ1, CCL5/RANTES and sFas/Apo-1 urine concentration in children with ureteropelvic junction obstruction. *Arch. Med. Sci.* 2013; 9 (5): 888–894.
33. Sevgi Mir, Pelin Ertan, Nese Ozkayin. Risk Factors for Renal Scarring in Children with Primary Vesicoureteral Reflux Disease. *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.* 2013; 24 (1): 54–59.
34. 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.
35. Лакомова Д.Ю., Стародубова А.В., Максимова А.В. Ранняя диагностика и прогнозирование развития нефросклероза у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом. *Bulletin of Medical Internet Conferences.* 2012; 2 (1): 27–28.
36. Burne-Taney MJ, Yokota N, Rabb H. Persistent renal and extrarenal immune changes after severe ischemic injury. *Kidney Int.* 2005; 67 (3): 1002–1009.
37. Kobayashi H, Miyakita H, Yamataka A, Koga H, et al. Serum basic fibroblast growth factor as a marker of reflux nephropathy. *J. Pediatr. Surg.* 2004; 39 (12): 1853–1855.
38. Nahas El AM. Renal scarring: the role of angiotensin II. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1995; 10 (Suppl. 9): 28–32.
39. Серова Г.А. Медиаторы воспаления и фиброгенеза при инфекции мочевой системы у детей: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М., 2008: 27.
40. Chertin B, Rolle U, Cascio S, et al. Upregulation of angiotensin II receptors in reflux nephropathy. *Journal of Pediatric Surgery.* 2002; 37 (2): 251–255.