

Н. М. Зайкова

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МОЧЕВОЙ ЭКСКРЕЦИИ АНГИОТЕНЗИНА II И ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА-β1 В ОПРЕДЕЛЕНИИ СТЕПЕНИ РЕФЛЮКС-НЕФРОПАТИИ У ДЕТЕЙ

Научно-исследовательский институт Охраны Здоровья Матери и Ребенка Республики Молдова, Кишинев

Целью работы было изучение диагностической значимости TGF-β1 и AngII в качестве лабораторных маркеров для выявления степени выраженности повреждения почечной ткани при ПМР. В группу исследования вошли 71 пациент с различной степенью ПМР в возрасте от 1 года до 14 лет (средний возраст 199,28±11,7 месяцев), из них 52 девочки (73,2%). В зависимости от степени РН по данным ДМСА-сцинтиграфии были определены 3 группы: 1гр – ПМР без РН, 2 гр-легкая степень РН, 3 гр.-ПМР с тяжелой степенью РН. Контрольную группу составили здоровые дети (10 детей), без почечной патологии в анамнезе. Установлено достоверное повышение продукции TGF-β1 и AngII в моче у всех больных с ПМР по сравнению с группой контроля. При высокой степени рефлюкс-нефропатии достоверно повышен уровень данных цитокинов по сравнению с легкой степенью, что подтверждает связь TGF-β1 и AngII с выраженностью склеротических процессов в тубулоинтерстициальной ткани. Проведенный поиск ранних и доступных биомаркеров тубулоинтерстициального фиброза показал, что выбранные метаболиты могут быть использованы в качестве критерия прогрессирования рефлюкс-нефропатии при ПМР.

Ключевые слова: TGF-β1, AngII, ПМР, рефлюкс-нефропатия

N.M.Zaicova

CLINICAL SIGNIFICANCE OF URINARY EXCRETION OF ANGIOTENSIN II AND TRANSFORMING GROWTH FACTOR-β1 IN DETERMINING THE DEGREE OF REFLUX NEPHROPATHY IN CHILDREN

The aim of investigation was study to study the diagnostic value of TGF-β1 and AngII as laboratory markers to identify the severity of damage to kidney tissue in the VUR. We observed 71 patients with varying degrees of VUR in the age from 1 year till 14 years (mean age 199,28±11,7 months), including 52 girls (73,2%). Depending on the RN according to DMSA-stsintishgrafii identified three groups: 1g-VUR without RH, 2-gr mild RN, 3 gr.-VUR with severe RH. The control group consisted only of healthy children (10 children), without a nephritic pathology in the anamnesis. The analysis of the received results has revealed the production of the substantial increase TGF – β-1 and AngII in urine at all the patients with VUR in comparison with control group. The TGF-β1/Cr level and Ang II in urine at a high degree of reflux-nephropatii is significantly above in comparison with mild degree reflux nephropathy, which confirms the link TGF-β1 and AngII with the severity of sclerotic processes in tubulointerstitial tissue. Search for available biomarker of early and tubulointerstitial fibrosis shows, that AngII and TGF-β1 can be use as a criterion for the progression of reflux nephropathy in the VUR.

Key words: TGF-β1, VUR, reflux-nephropathy

Среди приоритетных направлений современной нефрологии следует выделить совершенствование методов ранней диагностики рефлюкс-нефропатии (РН). В последние годы лабораторная служба обогатилась рядом диагностических тестов, которые могут использоваться в качестве маркеров повреждения почек, в результате наложения инфекции на врожденный или приобретенный пузырно-мочеточниковый рефлюкс (ПМР). Повреждение почечной ткани (гипоксия, обструкция, инфекция) приводит к продукции медиаторов (провоспалительных цитокинов и факторов роста), которые способствуют усиленному притоку лейкоцитов в область повреждения, формированию и последующему поддержанию воспалительного инфильтрата [1,2,3].

В литературе недостаточно освещен вопрос о роли ангиотензина II (AngII) при различных типах патологии почек, особенно при рефлюкс-нефропатии. Являясь основным профиброгенным фактором, инициирующим и поддерживающим процессы фибрилогенеза, AngII обуславливает также образование трансформирующего фактора роста (TGF-β1),

который стимулирует пролиферацию клеток и образование соединительной ткани [4,5,6].

Особое внимание вызывает исследование TGF-β1 и AngII в качестве лабораторных маркеров для выявления степени выраженности повреждения почечной ткани при ПМР, что поможет внести компонент объективности в решении диагностических и лечебных проблем.

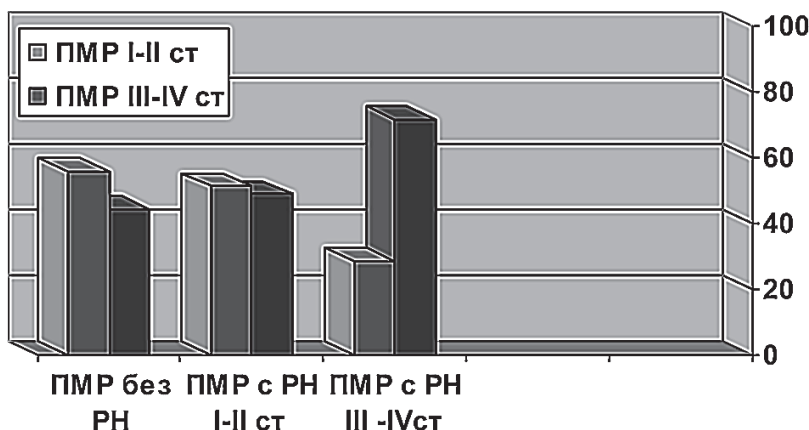


Рисунок 1. Развитие РН в зависимости от степени ПМР у детей.

Целью настоящего исследования явилась оценка клинического значения определения мочевой экскреции TGF-β1 и AngII в ранней диагностике рефлюкс-нефропатии у детей с ПМР.

Материал и методы

проанализированы результаты исследований, проведенных в период с 2008-2009 в отделениях нефрологии и урологии НИИОЗМиР. В исследование вошел 71 пациент с различной степенью ПМР в возрасте от 1 года до 14 лет (средний возраст $199,28 \pm 11,7$ месяцев), из них 52 девочки (73,2%). Всем исследуемым была проведена оценка функции почек, для чего использовались результаты ультразвукового исследования, УЗИ-доплер, микционной цистографии, экскреторной урографии и динамической нефросцинтиграфии, анализы крови и мочи, определялся уровень мочевины и креатинина в крови, скорость клубочковой фильтрации по формуле Шварца, а также концентрационную функцию почек в пробе Зимницкого и бактериологическое исследование мочи. Статическая ДМСА-сцинтиграфия была проведена через 3-6 месяцев после установления ПМР или последнего эпизода инфекции мочевых путей в отделении ядерной медицины Республиканской клинической больницы (зав. Карецкая В.В.) Кишинева. Степень рефлюкс-нефропатии определяли согласно классификации Goldraich и соавт. (1984): А – 1-2 рубца, В-2-3 рубца с сохраненной почечной паренхимой, С-очагово-диффузное распространение склеротических очагов с сохраненным почечным контуром, D – «маленькая» или атрофированная почка [7].

Совокупность полученных нефросцинтиграфических изменений по данным ДМСА-сцинтиграфии позволила разделить пациентов на группы в зависимости от степени тяжести РН. Среди 71 больных (142 почки), в 18 исследованных почках у детей с ПМР не было выявлено очагов склероза, в 54 почках были выявлены тип А и В рубцов при I-II степени ПМР и в 28 почках при III-V степени ПМР и часто рецидивирующим течением пиелонефрита. В 20 почках с III-V степенью ПМР определяли тип С и D рубцов и 22 почках тип В и D рубцов. В зависимости от степени РН мы объединили пациентов в следующие группы: 1 гр.- ПМР без РН (9 детей) – отсутствие очагов склероза, 2 гр.- I-II (легкая) степень РН (41 пациент) – тип А и тип В с обеих сторон, 3 гр.- III-IV (тяжелая) степень РН (21 пациент)-тип В, С и D рубцов с обеих сторон.

В утренней моче определяли экскрецию TGF-β1 и AngII методом иммуноферментного анализа (ELISA) и уровень креатинина в биохимической лаборатории Государствен-

ного Медицинского Университета «Н.Тестимицану» (зав. лабораторией профессор В. Гудумак) Кишинева. Концентрацию TGF-β1 и AngII пересчитывали на ммоль креатинина (нг/ммоль креатинина). Все дети находились в клинико-лабораторной ремиссии. Контрольную группу составили здоровые дети (10 детей), без почечной патологии в анамнезе.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica for Windows 6.0. с определением χ^2 и корреляционного анализа. Достоверными считали различия показателей при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Исследуемые группы больных не были статистически различимы по полу и возрасту.

Высокая частота острого пиелонефрита отмечалась у детей в возрасте до 3 лет ($p > 0,05$), обострение пиелонефрита отмечалось у 62% больных с ПМР. При анализе спектра возбудителей в урокультуре было установлено преобладание E.coli – в 80,2% случаев, St. epidermidis – 2,8%, Enterococcae – 5,6%, Kl. pneumoniae – 8,6%, Pr.mirabilis – 2,8%, в 57,7% урокультура была стерильной ($p < 0,05$). Умеренная лейкоцитурия ($23,6 \pm 9,6$) встречалась у большей половины пациентов с ПМР ($p > 0,05$). Среди обследованных нами детей было отмечено преобладание тяжелой степени РН у 52,4% мальчиков ($\chi^2 = 10,2$, $p < 0,05$).

Результаты УЗИ почек у 15 детей с ПМР (21,1%) показали уменьшение их размеров ($\chi^2 = 13,36$, $p < 0,05$) и повышение эхогенности почечной паренхимы в 80,3% случаев ($\chi^2 = .171$, $p > 0,05$). У детей с III – IV степенью ПМР и тяжелой степенью РН, определялась нечеткость почечного контура в 20% случаев слева и в 10% справа ($\chi^2 = .18,63$, $p < 0,001$). При I-II степени ПМР и легкой степенью РН размеры почек были уменьшены справа в 13,3% случаев ($p < 0,05$). У 10 пациентов с тяжелой степенью РН отмечалось повышение АД.

Из анализа цистографий выяснилось, что у 25 больных (35,2%) преобладает левосторонний ПМР, у 14 пациентов (19,7%) – правосторонний, в 45,1% случаев был диагностирован двусторонний ПМР. Гипотонический тип мочевого пузыря был установлен в основном у детей с ПМР и тяжелой степенью РН, гипертонический тип достоверно чаще при I-II степени РН ($p < 0,05$).

При I-II степени ПМР тяжелая степень РН определялась в 28,6% случаев и в 71,4% случаев при III-IV степени ПМР ($\chi^2 = 3,34$, $p > 0,05$) (рис.1).

Мочевая экскреция AngII и TGF-β1 в зависимости от

Таблица 1. Мочевая экскреция AngII и TGF-β у детей с ПМР и РН (нг/ммоль креатинина)

Показатели	AngII (нг/ммоль креатинина)				TGF-β1 (нг/ммоль креатинина)	
	n	%	M ± m	P	M ± m	P
1. ПМР I-II степени	32	45,1	73,56 ± 9,2	p1,2 > 0,05 p1,7 < 0,05 p3,4 > 0,05 p3,5 < 0,001 p3,7 < 0,05 p4,5 < 0,05 p4,7 < 0,001 p5,7 < 0,001 p6,7 < 0,001	234,07 ± 31,2	p1,2 > 0,05 p1,7 < 0,05 p2,7 < 0,05 p3,4 > 0,05 p3,5 < 0,001 p3,7 > 0,05 p4,5 < 0,001 p4,7 > 0,05 p5,7 < 0,001 p6,7 < 0,01
2. ПМР III-IV степени	39	54,9	83,96 ± 10,02		226,91 ± 38,14	
3. ПМР без РН	9	12,6	40,84 ± 3,9		147,32 ± 12,55	
4. РН (легкая) I-II степени	41	57,7	54,4 ± 4,5		165,97 ± 35,5	
5. РН (тяжелая) III-IV степени	21	29,6	143,15 ± 13,8		381,182 ± 28,2	
Гипостенурия	19	31,1	83,8 ± 8,1		241,08 ± 37,34	
Нормостенурия	42	68,8	76,7 ± 10,6		202,2 ± 33	
СКФ < 90 мл/мин	34	47,9	80,43 ± 9,51	256,83 ± 27,8		
СКФ ≥ 90 мл/мин	37	52,1	77,4 ± 9,44	186,63 ± 22,1		
6. Вся группа	71	100	79,3 ± 6,86	230,14 ± 25,1		
7. Контрольная группа (здоровые дети)	10	100	28,44 ± 2,7	107,51 ± 24,35		

■ Оригинальные научные публикации

клинико-функциональных нарушений у детей с ПМР и РН представлены в таблице 1.

При изучении мочевой экскреции TGF- β 1 была выявлена повышенная его концентрация в среднем в 2,1 раза у всех детей с ПМР по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). При этом у детей с тяжелой степенью РН отмечалась более выраженная экскреция TGF- β 1 в моче при сравнении с контролем и группой детей с легкой степенью РН ($381,18 \pm 28,2$, $t = -7,34$, $p < 0,001$). Средний уровень TGF- β 1 в моче у пациентов с ПМР без РН был ниже, чем у больных с выраженными признаками тубулоинтерстициального повреждения ($p > 0,05$), но достоверно выше, чем в контроле ($147,32 \pm 12,55$, $p < 0,05$).

Средний уровень AngII в моче у детей с I-II степенью ПМР, был повышен в 2,5 раза, а при III-IV степени в 2,9 раза по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$). Уровень AngII в моче при тяжелой степени РН был также достоверно выше ($143,15 \pm 13,8$, $t = -4,97$, $p < 0,001$), чем в группе детей с легкой степенью РН и контрольной группой, что, по-видимому, свидетельствует о склерозировании тубулоинтерстициальной ткани и уменьшении нормально функционирующей паренхимы. Больные с ПМР без РН характеризовались умеренным увеличением уровня AngII в моче при сравнении с группой детей с РН I-II степенью ($40,84 \pm 3,9$ и $54,4 \pm 4,5$ соответственно, $p > 0,05$), но существенно превышали показатели, чем в контрольной группе ($p < 0,05$).

Была изучена зависимость мочевой экскреции данных профиброгенных цитокинов от скорости клубочковой фильтрации и выраженностью РН. Оказалось, что среднее значение экскреции с мочой AngII и TGF- β 1 у детей со сниженной скоростью клубочковой фильтрации (< 90 мл/мин) было выше, чем у пациентов с умеренными изменениями тубулоинтерстициальной ткани и нормальной скоростью клубочковой фильтрации ($p > 0,05$). Корреляционный анализ выявил положительные связи между повышенной экскрецией TGF- β 1 и AngII в моче и тяжелой степенью РН ($r_{xy} = 0,55$, $p < 0,05$).

Известно, что возможным вариантом исхода уродинамических нарушений при ПМР является развитие нефросклероза, как без присоединения бактериального компонента, так и возникновением вторичного пиелонефрита. Наряду с этим возможно появление особой формы патологии-рефлюкс-нефропатии, которая возникает у 30-60% детей с ПМР [8,9]. При инфекции мочевых путей на фоне ПМР, бактериальная адгезия к клеткам нефротелия приводит к перегрузке и дисфункции мезангиальных клеток и канальцевого эпителия, что вызывает почечную ишемию, которая усугубляет нарушение почечного кровообращения. Гиперперфузия, следующая за ишемией, может повышать уровень токсичных кислородных радикалов и увеличить зону почечного поражения, за счет повышения продукции биологически активных веществ – цитокинов и факторов роста, таких как TGF- β 1 и AngII [10,11,12].

Полученные нами результаты исследования указывают на существенное увеличение уровня профиброгенных цитокинов в моче у всех детей с ПМР. Повышенная экскреция TGF- β 1 и AngII с мочой при тяжелой степени РН, по-видимому, может служить критерием выраженности склеротических процессов в тубулоинтерстициальной ткани и уменьшения нормально функционирующей почечной ткани. Наши данные согласуются с Sweeney B. [13], Tevull T.G. и соавт. [14], которые также определили взаимосвязь

между нарушением уродинамики и активностью TGF- β 1 в крови [13,14].

Повышение уровня профиброгенных цитокинов у детей с ПМР без признаков РН по данным ДМСА-сцинтиграфии, можно объяснить тем, что у этой категории детей происходит усиленная инфильтрация почечного интерстиция макрофагами и лимфоцитами, значительная пролиферация фибробластов, что определяет это как пресклеротическую стадию развития рефлюкс-нефропатии. Поскольку проксимальные канальцы, поврежденные ишемией, являются основным источником факторов роста, значительное повышенное содержание TGF- β 1 и AngII в моче по мере возрастания тяжести тубулоинтерстициального повреждения указывает на гиперпродукцию данных цитокинов и усиленную пролиферацию фибробластов с разрастанием соединительной ткани [15]. Схожие результаты были получены и Sabasinsca A. и соавт. (2008), обнаруживших высокую прямую корреляционную связь между мочевой экскрецией TGF- β 1 у детей с ПМР, тяжестью самого рефлюкса и почечным повреждением [16]. Рядом авторов было отмечено наличие тесной взаимосвязи между уровнем TGF- β 1 в моче и степенью тяжести повреждения почечной ткани у детей с ПМР, осложненным РН [17,18].

Суммируя полученные данные, можно предположить, что основной причиной, приводящей к развитию рефлюкс-нефропатии у больных детей с ПМР, является повышенная продукция факторов роста в условиях формирующейся РН. Установленная нами прямая корреляционная связь между уровнем экскреции TGF- β 1 и AngII и степенью тяжести РН у больных с ПМР свидетельствует о целесообразности и перспективности их включения в качестве маркеров прогнозирования развития рефлюкс-нефропатии.

Выводы

1. У всех больных с ПМР и РН отмечено повышение в моче уровня TGF- β 1 и AngII, что позволит использовать данные изменения для ранней диагностики рефлюкс-нефропатии у детей с ПМР.

2. Повышенное содержание TGF- β 1 и AngII в моче в группе пациентов без РН представляют собой как пресклеротическую стадию развития тубулоинтерстициального фиброза

3. Установленная положительная корреляционная связь между мочевой экскрецией AngII и TGF- β 1, а также степенью тяжести тубулоинтерстициального повреждения у детей с ПМР может служить прогностическим критерием прогрессирования нефропатии

Литература

1. Wheeler, DM, Vimalachandra D, Hodson EM, Smith GH, Craig JC. Interventions for primary vesicoureteric reflux (Cochrane Review). The Cochrane Database of Systematic Reviews 2004, Issue 3
2. De Heer, E., Sijpkens Y. W., Verkade M., den Dulk M. et al. Morphometry of interstitial fibrosis. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15 Suppl 6:72 – 73
3. Зоркин, С. Н. Факторы риска развития повреждения почек у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом. *Вопросы соврем. педиатрии*. 2003; 2(1): 71 – 73
4. Ruiz-Ortego, M., Lorenzo O., Suzuki Y., Ruperes M. Proinflammatory actions of angiotensin II. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens* 2001; 10:321 – 329
5. Klabr, S., Morrissey J. The role of vasoactive compounds, growth factors and cytokines in the progression of renal disease. *Kidney Int.* 2000;57; suppl. 75:7 – 14.
6. Sandberg, K., Ji H. Kidney angiotensin receptors and their role in renal pathophysiology // *Semin. Nephrol.* – 2000. – Vol. 20. – P. 402 – 416.
7. Goldraich, N., Ramos O., Goldraich I. Urography versus DMSA scan in children with vesicoureteral reflux. *Pediatr. Nephrol.*, 1984, vol.3, p.117 – 119.

8. Bundy, D. G., Serwint, J. R. Vesicoureteral Reflux. *Pediatr. Rev.* 2007; 28: 6 – 8

9. Moorthy, I. Easty M, McHugh K, Ridout D, Biassoni D., Gordon I. 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

10. Burne-Taney MJ, Yokota N, Rabb H. Persistent renal and extrarenal immune changes after severe ischemic injury. *Kidney Int.* 2005;67(3):1002-1009

11. Jutley RS, Youngson GG, Eremin O, Ninan GK. Serum cytokine profile in reflux nephropathy. *Pediatr Surg Int.* 2000;16(1-2):64 – 8.

12. Chertin, B., Rolle U, Cascio S, Upregulation of angiotensin II receptors in reflux nephropathy. *Pediatr Surg.* 2002 Feb;37(2):251 – 5.

13. 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

Оригинальные научные публикации

14. Tevull, T. G., Working P. K., Cbow C. P., Green J. D. Pathology of recombinant human Transforming Growth Factor-b1 in rats and rabbits. *Int. Rew. Exp. Pathol.* 1993;51:3590 – 3594

15. Carlton, M. Role of fibroblast growth factor receptor signaling in kidney development *Pediatric Nephrology*, Volume 22, Number 3 /, 2007, p.343 – 349

16. 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

17. Eddy, A. A. Molecular basis of renal fibrosis. *Pediatr. Nephrol.*, 2000, 15:290 – 301

18. Kobayashi, H; Miyakita H; Yamataka A; Koga H; Lane GJ; Miyano T. Serum basic fibroblast growth factor as a marker of reflux nephropathy. *J Pediatr Surg.* 2004; 39(12):1853 – 5

Поступила 11.01.2012 г.