ЦИТОКІНО-ЕНЗИМУРИЧНІ БІОМАРКЕРИ ВІДНОВЛЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПАРЕНХІМИ НИРКИ У ДІТЕЙ ПІСЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНОЇ КОРЕКЦІЇ ВРОДЖЕНИХ ВАД УРЕТЕРО-ВЕЗИКАЛЬНОГО СЕГМЕНТА

ДРАННІК Г.М., МИГАЛЬ Л.Я., НИКУЛІНА Г.Г., ПЕТЕРБУРГСЬКИЙ В.Ф., КАЛІНІНА Н.А., СЕРБІНА І.Є., КАЛІЩУК О.А.

Державна установа «Інститут урології НАМН України», м. Київ, Україна

ВСТУП

До вроджених вад уретеро-везикального сегменту (УВС) належить одне з чільних місць в структурі хронічних захворювань нирок у дитячому віці, які без адекватного лікування можуть ускладнюватися нефросклерозом, артеріальною гіпертензією та хронічною нирковою недостатністю [1]. У той же час у дітей, як відомо, після проведення реконструктивних корекцій вроджених вад УВС, зокрема черезміхурової уретероцистонеостомії, яка і на тепер залишається в якості перевірених часом та високоефективних методик корекції УВС [2-3], після відновлення сечовипускання функціональний стан сечового міхура впродовж перших трьох тижнів характеризується суттєвим погіршенням уродинаміки нижніх сечових шляхів за гіперрефлекторним типом, що є передумовою для погіршення результатів оперативного лікування в плані нормалізації функціонального стану тубулярного апарата нирки та вповільнення ішемічних та просклеротичних процесів в її паренхімі [4-5]. Наявність дисфункції сечового міхура, незважаючи на недовготривалість зазначених процесів (3-4 тижні після відновлення сечовипускання), може зумовлювати підвищення екскреції просклеротичних (трансформуючого фактору росту $\beta 1$ – ТФР- $\beta 1$) та прозапальних фактору некрозу пухлин α (ФНП- α) і моноцитарного хемоатрактантного протеїну 1 (MCP-1) цитокінів, на загальне є ознакою порушення функціонального стану паренхіми нирки та можливого її склерозування [6-8]. Також відомо, що гіперекскреція зазначених цитокінів індукує синтез прозапальних сполук і утворення екстрацелюлярних матриксних протеїнів та є провідним чинником порушення балансу між вазоконстрикторами та вазодилаторами, що призводить до розвитку гіпоксично-ішемічних процесів у паренхімі нирки та до її фіброзування [9]. Гіпоксія, як відомо, в свою чергу сприяє підвищенню активності каналцевих ферментів у сечі, таких як умовно реноспецифічні ферменти γ -глутамілтранспептидаза (ГГТ) та нейтральна α -глюкозидаза (НГ) [10-13]. Тож дослідження цих цитокіно-ензимуричних показників доцільно для оцінки функціонального стану паренхіми нирки та обґрунтування подальшої адекватної тактики ведення пацієнтів після корекції вад УВС.

Мета роботи – вивчити особливості змін в сечі рівнів екскреції цитокінів ТФР- $\beta 1$, ФНП- α та MCP-1 і активності ферментів ГГТ та НГ як біомаркерів відновлення функціонального стану паренхіми нирки у дітей у різні терміни після реконструктивної корекції вроджених вад УВС.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

До реконструктивної корекції вроджених вад УВС комплексне клініко-лабораторне дослідження проведено у 45 дітей 4-15 років (22 хлопчики, 23 дівчинки), у яких діагностовано мегауретер (МУ): 18 пацієнтів переважно чоловічої статі з нерексуючим МУ (НРМУ) та 27 пацієнтів переважно жіночої статі з рефлексуючим МУ (РМУ). За 3-4 тижні після операції обстежено 36 пацієнтів та за 4-6 місяців – 24 пацієнти. В дослідження не включалися діти з нейрогенною дисфункцією сечового міхура та з пієлонефритом. Всім пацієнтам виконана черезміхурова уретероцистонеостомія.

Контролем слугувала група 25 практично здорових дітей з нормальними аналізами сечі без уро-нефрологічної патології.

Визначення ФНП- α , ТФР- $\beta 1$ та MCP-1 проводили імуноферментним методом з використанням тест-систем "DRG" (USA) у відповідності з інструкцією виробника. Оптичну щільність визначали при

405-620 нм на спектрофотометрі STAT FAX-303. Результати виражали в одиницях маси речовини в перерахунку на одиницю об'єму сечі (пг/мл).

Активність ГГТ визначали колориметричним методом в нашій модифікації [14] із застосуванням набору реактивів фірми «Реагент». Для дослідження активності НГ використовували метод І.С. Лукомської зі співавт. [15] з подальшим визначенням вмісту утвореної глюкози глюкозооксидантним методом із застосуванням набору реактивів фірми «Філісіт» «Глюкоза-Ф» в нашій модифікації [16]. Активність ензимів виражали у відносних одиницях – у мкмоль продуктів реакції, що утворилися за 1 годину інкубації, із розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі (мкмоль/год/ммоль креатиніну).

Статистичну обробку даних проводили після аналізу відповідності їх розподілу до нормального. Оцінювали середню арифметичну величину та її похибку ($M \pm m$), також враховували межі коливань всіх показників. Статистичну вірогідність результатів досліджень оцінювали за t-критерієм Ст'юдента за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що рівні профібротичного цитокіну ТФР- β 1 у сечі дітей з вродженими вадами УВС у доопераційному періоді вірогідно ($p < 0,001$) перевищували аналогічні показники контролю (табл.).

Індивідуальний аналіз показав, що у групі хворих на НРМУ показник ТФР- β 1 у сечі коливався в діапазоні 12,5-19,2 пг/мл, в групі хворих з РМУ – 8,8-50,9 пг/мл, в групі контролю – 0-8,4 пг/мл. Отже, межі коливань ТФР- β 1 сечі в групі здорових дітей та дітей з вадами УВС не перекрещуються, що свідчить про високу активність профібротичних процесів у цих пацієнтів до операції. Зауважимо, що у хворих на РМУ екскреція ТФР- β 1 із сечею суттєво вище, ніж у хворих на вроджений НРМУ, що співпадає з нашими попередніми дослідженнями [17]. Рівні прозапального цитокіну ФНП- α у сечі дітей з вродженими вадами УВС до операції в середньому складали $64,8 \pm 9,4$ пг/мл, що також вірогідно більше за показник контролю – $9,7 \pm 2,1$ пг/мл ($p < 0,001$) (табл.). Аналіз отриманих результатів показав, що рівень екскреції ФНП- α також більш високий в групі хворих на РМУ, ніж у дітей з вродженим НРМУ, але ця різниця не є статистично достовірною. З огляду на те, що порушення внутрішньониркової гемодинаміки має місце при обох типах уродинамічних розладів сечоводу, подальший аналіз одержаних даних залежно від варіантів МУ у післяопераційному періоді не проводився.

Через 3-4 тижні після реконструктивних операцій рівні ФНП- α сечі практично не знизилися, а рівні ТФР- β 1 навіть підвищилися, що з одного боку вочевидь є наслідком отриманої пацієнтами травми після хірургічного втручання, а з іншого боку свідчить про загострення запальних та профібротичних процесів у паренхімі нирки дітей з вродженими вадами УВС. Персоніфікований аналіз отриманих результатів через 4-6 місяців після черезміхурового реконструктивного лікування засвідчив, що у 33,3% хворих констатована нормалізація рівнів ТФР- β 1 з $16,3 \pm 2,9$ пг/мл до $4,5 \pm 1,7$ пг/мл ($p < 0,001$) та суттєве зниження рівнів ФНП- α з $64,8 \pm 9,4$ пг/мл до $40,9 \pm 4,3$ пг/мл ($p < 0,05$) (табл.). В решті випадків, незважаючи на відновлення уродинаміки верхніх сечових шляхів, величини ФНП- α та ТФР- β 1 продовжували залишатися майже на доопераційному рівні. Це може вказувати на збереження активності тубулоінтерстиціального фіброзу та процесів запалення оперованої нирки. Тобто ймовірність відновлених процесів у цих хворих на даному етапі дослідження є доволі низькою і потребує ренопротекторної терапії, що також співпадає з думкою інших дослідників [5, 6, 18].

Також встановлено, що в сечі дітей з групи контролю прозапальний цитокін MCP-1 взагалі не визначається. У дітей з вродженими вадами УВС у доопераційному періоді його наявність зареєстровано лише в 22,9% випадків (межі коливань від 1,1 до 579,5 пг/мл). Через 4-6 місяців після реконструктивної корекції вад УВС MCP-1 виявлявся у 18,8% випадків (межі коливань від 4,4 до 270,9 пг/мл), тобто дослідження цього цитокіну в якості діагностично-прогностичного показника функціонального стану паренхіми нирок, згідно нашим результатам, недоцільне.

Порівняльний аналіз змін активності ГГТ та НГ в сечі дітей з вродженими вадами УВС до операцій та дітей з групи контролю продемонстрував статистично вірогідну різницю ($p < 0,001$), що переконливо свідчить про виражену діагностичну інформативність цих показників (табл.).

Таблиця

Екскреція трансформуючого фактору росту β 1 (ТФР- β 1) та фактору некрозу пухлин α (ФНП- α) та активність γ -глутамілтранспептидази (ГГТ) та нейтральної α -глюкозидази (НГ) у дітей з

вродженими вадами уретеро-везикального сегмента до та після уретероцистонеостомії (М ± m)

Продовження таблиці						
№ з/п	Групи, що були обстежені		Екскреція цитокінів (пг/мл)		Активність ферментів (мкмоль/год/ммоль креатиніну)	
			ТФР-β1	ФНП-α	ГГТ	НГ
№ з/п	Групи, що були обстежені		Екскреція цитокінів (пг/мл)		Активність ферментів (мкмоль/год/ммоль креатиніну)	
			ТФР-β1	ФНП-α	ГГТ	НГ
1	До операції, n = 45		16,3 ± 2,9	64,8 ± 9,4	122,8 ± 13,3	188,8 ± 22,0
2	Через 3-4 тижні після операції, n = 36		19,4 ± 3,0	61,9 ± 9,0	129,7 ± 19,6	181,1 ± 23,2
3а	Через 4-6 місяців після операції, n = 24	позитивна динаміка змін, n = 8	4,5 ± 1,7	40,9 ± 4,3	32,3 ± 3,1	107,1 ± 8,2
3б		негативна динаміка змін, n = 16	15,8 ± 2,3	60,1 ± 7,7	52,6 ± 4,3	158,7 ± 11,3
4	Контрольна група, n = 25		3,85 ± 1,7 0 – 8,4	9,7 ± 2,1 0 – 25,5	22,9 ± 2,0 7,9 – 37,9	84,9 ± 6,4 39,9 – 127,7
p1, 2, 3б-4 <			0,001	0,001	0,001	0,001
p3б-3а <			0,001	0,05	0,001	0,05
p1, 2-3б <			–	–	–	–

Про ГГТ відомо, що найвища активність цього ензиму в організмі людини реєструється в нирках, а саме в мембрані епітелію проксимальних канальців (в щітковій облямівці). Тому можна вважати, що ГГТ має певні реноспецифічні властивості та забезпечує більш надійну та інформативну діагностику змін функціонального стану паренхіми нирки, зокрема нефротелію тубулярного відділу нефрону [11]. Активність НГ також локалізована в епітелії звивистих канальців проксимального відділу нефрону, але на відміну від мембранопов'язаної ГГТ, НГ є розчиненою у клітинній цитоплазмі. Цей фермент також має певні реноспецифічні властивості [13, 15].

Прогресування патологічного процесу в нирках характеризується ішемічним ураженням цього органа та супроводжується вивільненням ферментів із пошкоджених клітин тубулярного нефротелію в сечу. Отже, зростання активності цих ферментів у сечі хворих з одного боку свідчать про дисфункцію канальцевого відділу нефрону та розвиток тубулопатії, а з іншого – є інформативними біомаркерами патологічних змін різних клітинних структур: цілісності щіткової облямівки (ГГТ) та більш глибокого ураження нефротелію звивистих канальців проксимального відділу нефрону, а саме ураження клітинної цитоплазми (НГ).

Встановлено, що в групі контролю активність ГГТ реєструється в межах 7,9-37,9 мкмоль/год/ммоль креатиніну, активність НГ коливається від 39,8 до 127,7. Відновлення функціонального стану паренхіми нирки, зокрема канальцевого нефротелію, оцінюють як ефективне, якщо рівні активності ГГТ у сечі дітей з вродженими вадами УВС після уретероцистонеостомії та відновлення уродинаміки реєструються у діапазоні 7,9-37,9, а рівні активності НГ у діапазоні 39,8-127,7 мкмоль/год/ммоль креатиніну.

Порівняння показників ферментурії до операції показало, що у дітей з РМУ активність обох ферментів дещо вища, ніж у дітей з НРМУ: 137,8 ± 16,6 мкмоль/год/ммоль креатиніну проти 99,3 ± 21,1 у хворих на НРМУ для ГГТ та 194,9 ± 31,5 проти 179,4 ± 29,8 у хворих на НРМУ для активності НГ, що також співпадає з нашими попередніми дослідженнями [17].

Через 3-4 тижні після реконструктивних операцій рівні активності ГГТ та Н-ГЛ сечі практично не знижуються, що свідчить про відсутність відновлення функціонального стану паренхіми нирки у цих пацієнтів (табл.), і також пояснюється можливими наслідками отриманої пацієнтами післяопераційної травми.

Через 6 місяців після хірургічної корекції УВС у 8 з 24 (33,3%) хворих рівні активності ГГТ та НГ сечі практично сягають діапазону меж контрольних значень. Це свідчить про ефективне відновлення функціонального стану паренхіми нирки у цих хворих. У решти 16 пацієнтів (66,7%) рівні активності цих ензимологічних показників хоча і знижуються, але верхньої межі контрольних значень не досягають, що вказує на неефективність відновлення функціонального стану паренхіми нирок і каналцевого нефротелію на фоні дисфункції сечового міхура. Цих хворих доцільно виділити в окрему групу ризику розвитку нефросклерозу для регулярного моніторингу і проведення своєчасної ренопротекторної терапії [14].

Отже, отримані результати доводять, що ефективність відновлення функціонального стану паренхіми нирки у дітей з вродженими вадами УВС після черезміхурової уретероцистонеостомії досягається у 33,3% випадків. Також отримані результати підтверджують правильність нашого підходу до встановлення меж розподілу рівнів активності ферментів для порівняння показників пацієнтів з вродженими вадами УВС та показників групи контролю. Отримані нами результати узгоджуються з даними інших авторів, що після реконструктивних операцій у частини хворих є ознаки порушення функції нирки з подальшим її погіршенням [5, 6, 18]. У той же час є інформація, що зниження тиску у сечоводі після відновлення уродинаміки з часом призводить до певної нормалізації деяких біомаркерів, зокрема імунологічних показників запалення та проліферації у дітей з вродженими вадами УВС [8, 9] і ензимуричних показників відновлення функціонального стану паренхіми нирки.

ВИСНОВКИ

1. Наявність вроджених вад УВС чинить негативний вплив на функціональний стан паренхіми нирки, що підтверджується статистично вірогідним підвищенням рівнів профіброгенного (ТФР- β 1) та прозапального (ФНП- α) цитокінів та активності ензимів ГГТ і НГ у сечі хворих дітей, що дозволяє використовувати ці показники як критерії ризику формування нефросклерозу.
2. Вірогідне зменшення рівнів екскреції ТФР- β 1 та ФНП- α , а також сечової активності ГГТ та НГ як інформативних біомаркерів функціонального стану паренхіми нирки у 33,3% пацієнтів через 4-6 місяців після черезміхурового реконструктивного лікування вад УВС свідчить про відновлення функціонального стану тубулоінтерстицію.
3. З огляду на те, що у 66,7 % дітей з вродженими вадами УВС через півроку після черезміхурової уретероцистонеостомії, незважаючи на відновлення уродинаміки, негативний вплив дисфункції сечового міхура на функціональний стан паренхіми нирки зберігається (відсутність позитивної динаміки рівнів ТФР- β 1, ФНП- α , активності ГГТ та НГ у сечі дітей), цих хворих необхідно виділяти в групу ризику та своєчасно призначати ренопротекторне лікування.
4. Встановлено, що визначення екскреції цитокіну MCP-1 як біомаркера відновлення функціонального стану паренхіми нирки після реконструктивної корекції вроджених вад УВС не є доцільним.
5. Встановлені особливості цитокінових та ензимуричних порушень у дітей з вродженими вадами УВС у післяопераційному періоді доцільно враховувати для удосконалення методів реконструктивного лікування.

ЛІТЕРАТУРА

- Зоркин С. Н. Патогенетические основы формирования и принципы лечения обструктивных уротатий у детей / С. Н. Зоркин, И. Н. Хворостов, И. Е. Смирнов, И. В. Дворяковский, Л. Е. Скутина // Вісник Вінницького Нац. університету. – 2007, Т. 11 (1/1). – С. 198-204.
- Dogan H. S. Ureteroneocystomy in primary vesicoureteral reflux: critical retrospective analysis of factors affecting the postoperative urinary tract infection rates / H. S. Dogan, A. C. Bozaci, B. Ozdemir, S. Tonyali, S. Tekgul // Int. Braz. J. Urol. – 2014. – Vol. 40. – P. 539-545.
- Бетанов З. В. Лечение детей раннего возраста с нерефлюксирующим мегауретером / З. В. Бетанов // Рос. вест. – 2017, Т. VII. – № 4. – С. 101-112.
- Симонян Г. В. Анатомо-функциональное состояние мочевого пузыря после реконструктивно-пластических операций на пузырно-мочеточниковом сегменте / Урология: Автореф. дис. на соискание уч. ст. канд. мед. наук. – Москва. – 2012. – 16 с.

- Ooi S. M. Lower urinary tract dysfunction in children after intravesical ureteric reimplantation surgery under one year of age / S. M. Ooi, N. Kane, J. Khosa, A. Barker, N. Samnakay // *Ped. urol.* – 2014. – Vol. 10, Issue 6. – P.1139-1144.
- Gillies D. Bladder spasm in children after surgery for ureteric reimplantation / D. Gillies, I. Lane, D. Murrell, R. Cohen // *Pediatr. Surg. Int.* – 2003. – Vol. 19. – P. 733-736.
- Лесовой В. Н. Диагностическое значение определения уровня провоспалительных цитокинов в моче больных гиперактивным мочевым пузырем / В. Н. Лесовой, И. А. Гарагатый, С. М. Колупаев, Л. С. Колупаева // *Эксперим. и клинич. медицина.* – 2011. – N 2. – С. 159-161.
- Лесовой В. Цитокины в патогенезе гиперактивного мочевого пузыря / В. Лесовой, С. Колупаев // *Научные ведомости Бел-городского гос. университета.* – 2013. – Т. 23, N 18. – С. 37-39.
- Тетерина Т. А. Роль маркеров воспаления и пролиферации в диагностике резистентного гиперактивного мочевого пузыря / Т. А. Тетерина, И. А. Аполихина, П. В. Глыбочко, Л. В. Безнощенко, О. С. Кречетова, Я. Б. Миркин // *Эксперим. и клиническая урология.* – 2014. – N 1. – С. 92-96.
- Крайдашенко О. В. Біомаркери пошкодження нирок у хворих на гіпертонічну хворобу / О. В. Крайдашенко, М. О. Долінна // *Укр. журнал нефрології та діалізу.* – 2014. – № 3 (43). – С. 48-51.
- Комаров Ф. И. Ферменты, изоферменты и диагностическое значение их определения / Ф. И. Комаров, Б. Ф. Коровкин, В. В. Меньшиков // *Биохимические исследования в клинике.* – Элиста: «Джангар», 1999. – С. 4-48.
- Taha M. A. Obstructed versus dilated nonobstructed kidneys in children with congenital ureteropelvic junction narrowing: role of urinary tubular enzymes / M. A. Taha, A. A. Shokeir, H. G. Osman, Abd El-Aziz Ael-A, S.E. Farahat // *J. Urol.* – 2007. – Vol. 178, N 2. – P. 640-646.
- Зайкова Н. М. Активность псевдохолинэстеразы и нейтральной альфа-глюкозидазы в моче у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом и рефлюкс-нефропатией / Н. М. Зайкова, В.В. Длин, В. С. Гудумак // *Рос. вест. перинатологии и педиатрии.* – 2013. – № 5. – С. 75-81.
- Патент № 137073, UA, МПК G01N 33/48 (2006.01), G01N 33/493 (2006.01). Спосіб оцінки ефективності відновлення функціонального стану паренхіми нирки у дітей з вродженими вадами уретеро-везикального сегмента після уретероцистостомії / Нікуліна Г.Г., Петербургський В.Ф., Мигаль Л.Я., Сербіна І.Є. Каліщук О.А.; ДУ «ІУНАМН України»; у 2019 04035, 17.04.2019. опуб. 25.09.2019. Бюл. № 18. – 5 с.
- Лукомская И. С. Диагностическое значение определения активности нейтральной α -глюкозидазы в моче при патологии почек // И. С. Лукомская, Т. П. Лавренова, Н. А. Томилина, М. Л. Зубкин, Н. Д. Фёдорова // *Вопр. мед. химии.* – 1986. – N 5. – С. 112-119.
- Патент № 75640, UA, МПК G01N 33/48 (2006.01), A61P 13/12 (2006.01). Спосіб оцінки ступеня порушення функціонального стану паренхіми нирки у дітей з вродженою однобічною обструктивною уронефропатією / Мигаль Л.Я., Нікуліна Г.Г., Сербіна І.Є., Д.А. Сеймівський, В.Ф. Петербургський, О.А. Каліщук; ДУ «ІУ НАМНУ»; у 2012 05993, 17.05.2012. опуб. 10.12.2012. Бюл. № 23. – 5 с.
- Мигаль Л. Я. Особливості змін профіброгенного цитокіну TGF- β 1 та умовно реноспецифічних ферментів у сечі дітей з різними клінічними варіантами мегауретера / Л. Я. Мигаль, І. Є. Сербіна, Г. Г. Нікуліна, Г. М. Драннік, Н. А. Калініна, Т. В. Порошина, Д. А. Сеймівський, В. Ф. Петербургський, О.А.Каліщук // *Імунологія та алергологія: наука і практика.* – 2009. –№ 4. –С. 77-83.
- Fry C. H. What is the role for biomarkers for lower urinary tract disorders? / C. H. Fry, A. Sahai, B. Vahabi, A. J. Kanai, L. A. Birder // *Neurourol Urodyn.* – 2014. – Vol. 33, N 5. – P. 602-605.

РЕЗЮМЕ

ЦИТОКІНО-ЕНЗИМУРИЧНІ БІОМАРКЕРИ ВІДНОВЛЕННЯ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПАРЕНХІМИ НИРКИ У

ДІТЕЙ ПІСЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНОЇ КОРЕКЦІЇ ВРОДЖЕНИХ ВАД УРЕТЕРО-ВЕЗИКАЛЬНОГО СЕГМЕНТА

*Драннік Г.М., Мигаль Л.Я., Нікуліна Г.Г.,
Петербургський В.Ф., Калініна Н.А.,
Сербіна І.Є., Каліщук О.А.*

Державна установа «Інститут урології НАМН України»,
м. Київ, Україна

Метою роботи було вивчити особливості змін рівнів екскреції цитокінів трансформуючого фактора росту $\beta 1$ (ТФР- $\beta 1$), фактора некрозу пухлин α (ФНП- α), моноцитарного хемоатрактантного протеїну-1 (MCP-1) та сечової активності умовно реноспецифічних ензимів γ -глутамілтранспептидази (ГГТ) та нейтральної α -глюкозидази (НГ) як біомаркерів відновлення функціонального стану паренхіми нирки у дітей в різні терміни після реконструктивної корекції вроджених вад уретеро-везикального сегмента (УВС).

Матеріал та методи. До реконструктивної корекції вроджених вад УВС комплексне клініко-лабораторне дослідження проведено у 45 дітей віком від 4 до 15 років (22 хлопчики, 23 дівчинки), у яких за даними візуалізаційних методів оцінки діагностовано мегауретер (МУ): 18 пацієнтів з нерефлексуючим МУ (НРМУ) та 27 пацієнтів з рефлексуючим МУ (РМУ). Через 3-4 тижні після операції обстежено 36 пацієнтів та через 4-6 місяців – 24 пацієнти. В дослідження не включалися діти з нейрогенною дисфункцією сечового міхура та з пієлонефри-том. Всім пацієнтам виконана черезміхурова уретероцистостомія. Контролем слугувала група 25 практично здорових дітей з нормальними аналізами сечі без уронефрологічної патології. Визначення ФНП- α , ТФР- $\beta 1$ та MCP-1 проводили в ранковій порції сечі, результати виражали в одиницях маси речовини в перерахунку на одиницю об'єму сечі (пг/мл). Визначення активності ГГТ та НГ здійснювали колориметричним методом в нашій модифікації із застосуванням вітчизняних наборів реактивів. Активність ензимів виражали у відносних одиницях – у мкмоль продуктів реакції, що утворилися за 1 годину інкубації, із розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі (мкмоль/год/ммоль креатиніну). Враховували також межі коливань всіх досліджуваних показників.

Результати. Порівняльний аналіз рівнів ТФР- $\beta 1$, ФНП- α , активності ГГТ та НГ у сечі дітей з вродженими вадами УВС до реконструктивних операцій та у дітей з контрольної групи продемонстрував статистично вірогідну різницю ($p < 0,001$). Встановлено, що в сечі дітей з групи контролю рівні прозапального цитокіну MCP-1 взагалі не визначаються. Дослідження цього цитокіну в якості діагностично-прогностичного показника функціонального стану паренхіми нирок, за нашими даними, не доцільне. Також встановлено, що до операції у хворих на РМУ має місце підвищення як рівнів ТФР- $\beta 1$ та ФНП- α , так і рівнів активності ГГТ та НГ у порівнянні з групою хворих на вроджений НРМУ. За 3-4 тижні після реконструктивних операцій рівні ФНП- α і рівні активності ГГТ та НГ сечі практично не знизилися, а рівні ТФР- $\beta 1$, навпаки, навіть підвищилися. Персоніфікований аналіз отриманих результатів через 4-6 місяців після проведеного реконструктивного лікування засвідчив, що у 33,3% хворих констатована нормалізація рівнів ТФР- $\beta 1$ ($p < 0,001$) та суттєве зниження рівнів ФНП- α , рівні активності ГГТ та НГ сечі практично сягають верхньої межі контрольних значень. В решті випадків, незважаючи на відновлення уродинаміки верхніх сечових шляхів, рівні ФНП- α , ТФР- $\beta 1$ та активності ГГТ та НГ продовжували залишатися на досить високому рівні.

Висновки. Рівні ФНП- α , та ТФР- $\beta 1$, а також рівні активності ензимів ГГТ та НГ сечі у дітей з вродженими вадами УВС є діагностично інформативними біомаркерами прогресування патологічного процесу в нирці та негативного впливу порушення уродинаміки на ступінь прозапальних та профібротичних процесів паренхіми нирки в післяопераційному періоді. Враховуючи те, що в 66,7% випадків у дітей з вродженими вадами УВС після уретероцистостомії зберігаються порушення функції тубулярного апарата паренхіми нирки та ознаки тубулоінтерстиціального фіброзу, цих хворих доцільно виділити в окрему групу ризику розвитку нефросклерозу щодо проведення своєчасної ренопротекторної терапії.

Ключові слова: вроджені вади уретеро-везикального сегмента, черезміхурова уретероцистостомія, діти, цитокіни, ферменти, сеча.

РЕЗЮМЕ

ЦИТОКИНО-ЭНЗИМУРИЧЕСКИЕ БИОМАРКЕРЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПАРЕНХИМЫ ПОЧКИ У ДЕТЕЙ ПОСЛЕ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ КОРРЕКЦИИ ВРОЖДЕННЫХ АНОМАЛИЙ УРЕТЕРО-ВЕЗИКАЛЬНОГО СЕГМЕНТА

Дранник Г. Н., Мигаль Л.А., Никулина Г.Г., Петербургский В.Ф., Калинина Н.А., Сербина И.Е., Калищук О.А.

Государственное учреждение «Институт урологии НАМН Украины», г. Киев, Украина

Целью работы было изучение особенностей изменений уровней экскреции цитокинов трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (ТФР- $\beta 1$), фактора некроза опухолей α (ФНП- α), моноцитарного хемоатрактантного протеина 1 (MCP-1) и активности в моче условно реноспецифических энзимов γ -глутамилтранспептидазы (ГГТ) и нейтральной α -глюкозидазы (НГ) как биомаркеров восстановления функционального состояния паренхимы почки у детей в разные сроки после реконструктивной коррекции врожденных аномалий уретеро-везикального сегмента (УВС).

Материал и методы. До реконструктивной коррекции врожденных аномалий УВС комплексное клинико-лабораторное исследование проведено у 45 детей в возрасте от 4 до 15 лет (22 мальчика, 23 девочки), у

которых по данным визуализационных методов оценки диагностирован мегауретер (МУ): 18 пациентов с не-рефлюксирующим МУ (НРМУ) и 27 пациентов с рефлюксирующим МУ (РМУ). Через 3-4 недели после операции обследовано 36 пациентов и через 4-6 месяцев – 24 пациента. В исследование не включались дети с нейрогенной дисфункцией мочевого пузыря и с пиелонефритом (ПН). Всем пациентам выполнена чрезпузырная уретероцистонеостомия. Контролем служила группа из 25 практически здоровых детей с нормальными анализами мочи и без уронефрологической патологии. Определение ФНП- α , ТФР- β 1 и MCP-1 проводили в утренней порции мочи, результаты выражали в единицах массы вещества в пересчете на единицу объема мочи (пг/мл). Определение активности ГГТ и НГ производили колориметрическим методом в нашей модификации с использованием отечественных наборов реактивов. Активность энзимов выражали в относительных единицах – в мкмоль/час/ммоль креатинина, которые образовались за 1 час инкубации в расчете на 1 ммоль креатинина мочи (мкмоль/час/ммоль креатинина). Учитывали также границы колебаний всех исследуемых показателей.

Результаты. Сравнительный анализ изменений уровней ТФР- β 1, ФНП- α , активности ГГТ и НГ в моче детей с врожденными аномалиями УВС до реконструктивных операций и контрольной группой продемонстрировал статистически достоверную разницу ($p < 0,001$). Установлено, что в моче детей из группы контроля уровни провоспалительного цитокина MCP-1 вообще не определяются. Исследование этого цитокина в качестве диагностически-прогностического показателя функционального состояния паренхимы почек, согласно нашим результатам, не целесообразно. Также установлено, что до операции у больных с РМУ имеет место повышение как уровней ТФР- β 1 и ФНП- α , так и уровней активности ГГТ и НГ в сравнении с группой больных с врожденным НРМУ. Через 3-4 недели после реконструктивных операций уровни ФНП- α и уровни активности ГГТ и НГ мочи практически не снизились, уровни ТФР- β 1, наоборот, даже повысились. Персонифицированный анализ полученных результатов через 4-6 месяцев после проведенного реконструктивного лечения показал, что у 33,3% больных констатирована нормализация уровней ТФР- β 1 ($p < 0,001$) и существенное снижение уровней ФНП- α , уровни активности ГГТ и НГ мочи приближаются к верхней границе контрольных значений. В остальных случаях, несмотря на восстановление уродинамики верхних мочевых путей, уровни ФНП- α , ТФР- β 1, а также активности ГГТ и НГ продолжали оставаться на достаточно высоком уровне.

Выводы. Уровни ФНП- α , ТФР- β 1 и значения активности условно реноспецифических энзимов ГГТ и НГ мочи у детей с врожденными аномалиями УВС являются диагностически информативными биомаркерами негативного влияния нарушения уродинамики на степень провоспалительных и профибротических процессов паренхимы почки в послеоперационном периоде. Учитывая, что в 66,7% случаев у детей с врожденными аномалиями УВС после уретероцистонеостомии сохраняются нарушения функции тубулярного аппарата паренхимы почки и признаки тубулоинтерстициального фиброза, этих больных целесообразно выделить в отдельную группу риска развития нефросклероза для проведения своевременной ренопротекторной терапии.

Ключевые слова: врожденные аномалии уретеро-везикального сегмента, чрезпузырная уретероцистонеостомия, дети, цитокины, ферменты, моча.

SUMMARY

CYTOKINE-ENZYMATIC BIOMARKERS FOR RESTORATION OF THE FUNCTIONAL STATE OF RENAL PARENCHYMA IN CHILDREN AFTER RECONSTRUCTIVE CORRECTION OF CONGENITAL DEFECTS OF THE URETERO-VESICAL SEGMENT

Drannik G.M., Myhal L.Y., Nikulina G.G., Peterburhskyi V.F., Kalinina N.A., Serbina I.Ye., Kalishchuk O.A.

State Institution "Institute of Urology of NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

The aim of this study was to study the peculiarities of changes in cytokine excretion levels of transforming growth factor β 1 (TGF- β 1), tumor necrosis factor α (TNF- α), monocytic chemoattractant protein 1 (MCP-1) and urinary activity of conditionally renospecific enzymes γ -glutamyltranspeptidase (GGT) and neutral α -glucosidase (NG) as biomarkers of restoration of the functional state of the kidney parenchyma in children at different times after reconstructive correction of congenital defects of the uretero-vesical segment (UVS).

Materials and Methods. Prior to reconstructive correction of congenital defects of UVS the comprehensive clinical and laboratory study was conducted in 45 children aged 4 to 15 years (22 boys, 23 girls) who were diagnosed with megaureter (MU) according to visualization methods: 18 patients with non-refluxing MU (NRMU) and 27 patients with refluxing MU (RMU). 3-4 patients were examined 3-4 weeks after the operation and 24 patients 4-6 months later. The study did not include children with neurogenic bladder dysfunction and pyelonephritis. All patients underwent transvesical ureterocystoneostomy. The reference group consisted of 25 healthy children with normal urinalysis and without an uronephrological pathology. Determination of TNF- α , TGF- β 1 and MCP-1 was carried out in urine by the enzyme immunoassay. The results were expressed in units of mass of the substance in terms of unit volume of urine (pg/ml). The activity of GGT and NG was determined by a colorimetric method in our modification using reagent kits. The activity of enzymes in urine was expressed in relative units – in micromoles of reaction products formed after 1 hour of incubation 1 mmol of urine creatinine (μ mol/hour/mmol creatinine). We also took into account the fluctuation limits of all investigated indicators.

Results. The comparative analysis of TGF- β 1, TNF- α , GGT and NG in children with congenital UVS defects before reconstructive operations and the control group demonstrated the statistically reliable difference ($p < 0.001$).

It was stated that in urine of the control group the levels of pro-inflammatory cytokine MCP-1 are not defined at all. The study of this cytokine as a diagnostic and prognostic index of the functional state of renal parenchyma, according to our results, is not advisable. It was also stated that in patients with RMU (baseline) there is an increase in both TGF- β 1 and TNF- α levels and the levels of GGT and NG activity compared with the group of patients with congenital NRMU. 3-4 weeks after reconstructive surgery, the levels of TNF- α and the levels of activity GGT and NG urine did not decrease, levels of TGF- β 1, on the contrary, even increased. A personalized analysis of the results 4 to 6 months after the transvesical reconstruction revealed that 33.3% of patients showed normalization of TGF- β 1 levels ($p < 0.001$) and a significant decrease in TNF- α , the levels of GGT and urinary NG activity practically reach the range of control. In other cases, despite the recovery of upper urinary tract dynamics, the levels of TNF- α , TGF- β 1 and the activity of GGT and NG continued to remain at a fairly high level.

Conclusions. The levels of TNF- α and TGF- β 1 as well as the levels of activity of conditionally renospecific enzymes GGT and NG of urine in children with congenital malformations of UVS are diagnostically informative biomarkers about progression of pathological process in the kidney and negative influence of pronounced dysfunction of urinary bladder on the pro-inflammatory and pro-fibrotic processes of renal parenchyma in the postoperative period. Taking into account that in 66.7% of cases in children with congenital UVS defects after ureterocystoneostomy disorders in the function of the tubular apparatus of the renal parenchyma and signs of tubulointerstitial fibrosis persist, it is advisable to distinguish these patients into a separate group to avoid the risk for the development of nephrosclerotic disease and to start modern renoprotective therapy timely.

Key words: congenital defects of uretero-vesical segment, transvesical ureterocystoneostomy, children, cytokines, enzymes, urine.

АВТОРСЬКА ДОВІДКА

Драннік Георгій Миколайович

Доктор мед. наук, професор,
зав. лабораторії імунології ДУ «Інститут урології НАМНУ»
Адреса: Обсерваторний провулок, 3, Київ, 02000, Україна
Тел. 044-486-54-03 (сл.)
e-mail utiainew@gmail.com

Дранник Георгий Николаевич

Доктор мед. наук, профессор,
зав. лабораторией иммунологии
ГП «Институт урологии НАМНУ»
Адрес: Обсерваторный переулок, 3, Киев, 02000, Украина
Тел. 044-486-54-03 (сл.)
e-mail utiainew@gmail.com

Drannyk Georgii

Doctor of Medicine, Prof., Head of the Laboratory of Immunology,
State Institution «Institute of Urology NAMS»
Address: Observatory Lane, 3, Kyiv, 02000, Ukraine
tel. 044-486-54-03
e-mail utiainew@gmail.com

Мигаль Людмила Якимівна,

Кандидат мед.наук,
старший науч. співробітник лабораторії біохімії ДУ «Інститут урології НАМНУ»
Адреса: Обсерваторний провулок, 3, Київ, 02000, Україна
Тел.: (098) 537-46-03
e-mail mygal555@gmail.com

Мигаль Людмила Акимовна,

Кандидат мед. наук,
старший научн. сотрудник лаб. биохимии ДУ «Институт урологии НАМНУ»
Адрес: Обсерваторный переулок, 3, Киев, 02000, Украина
Тел.: (098) 537-46-03
e-mail mygal555@gmail.com

Myhal Liudmyla

Candidate of Medical Sciences,
Senior Researcher of the Laboratory of Biochemistry, State Institution «Institute of Urology NAMS»
Address: Observatory Lane, 3, Kyiv, 02000, Ukraine
tel. (098) 537-46-03

e-mail mygal555@gmail.com

Нікуліна Галина Григорівна,

Доктор біол. наук, професор,
зав. лабораторії біохімії ДУ «Інститут урології НАМНУ»
Адреса: Обсерваторний провулок, 3, Київ, 02000, Україна
Тел.: (067) 403-53-80,
e-mail galinanikulina45@gmail.com

Никулина Галина Григорьевна,

Доктор биол. наук, професор,
зав. лабораторией биохимии ДУ «Институт урологии НАМНУ»
Адрес: Обсерваторный переулок, 3, Киев, 02000, Украина
Тел.: (067) 403-53-80,
e-mail galinanikulina45@gmail.com

Nikulina Galyna

Doctor of Biological Sciences, professor, Head of the Laboratory of Biochemistry,
State Institution «Institute of Urology NAMS»
Address: Observatory Lane, 3, Kyiv, 02000, Ukraine
tel. (067) 403-53-80,
e-mail galinanikulina45@gmail.com

Петербургський Володимир Федорович,

Доктор мед. наук,
завідувач відділу дит. урології ДУ «Інститут урології НАМНУ»
Адреса: Обсерваторний провулок, 3, Київ, 02000, Україна
Тел.: (097) 168-06-06
e-mail peterburgski@ukr.net

Петербургский Владимир Федорович,

Доктор мед. наук,
зав. отделом дет. урологии ДУ «Институт урологии НАМНУ»
Адрес: Обсерваторный переулок, 3, Киев, 02000, Украина
Тел.: (097) 168-06-06
e-mail peterburgski@ukr.net

Peterburgskii Volodymyr

Doctor of Medical Sciences,
Head of the Department of Pediatric Urology, State Institution «Institute of Urology NAMS»
Address: Observatory Lane, 3, Kyiv, 02000, Ukraine
tel. (097) 168-06-06
e-mail peterburgski@ukr.net

Калініна Наталія Альбертівна,

Кандидат біол. наук,
старший наук. співробітник
лабораторії імунології ДУ «Інститут урології НАМНУ»
Адреса: Обсерваторний провулок, 3, Київ, 02000, Україна
e-mail utiainew@gmail.com
Тел. (063) 329-76-72

Калинина Наталья Альбертовна,

Кандидат биол. наук,
старший научн. сотрудник
лаборатории иммунологии ДУ «Институт урологии НАМНУ»
Адрес: Обсерваторный переулок, 3, Киев, 02000, Украина
e-mail utiainew@gmail.com
Тел. (063) 329-76-72

Kalinina Natalia

Candidate of Biological Sciences,
Senior Researcher of the Laboratory of Immunology, State Institution «Institute of Urology NAMS»
Address: Observatory Lane, 3, Kyiv, 02000, Ukraine
e-mail utiainew@gmail.com
tel. (063) 329-76-72

Сербіна Ірина Євгенівна,

Науковий співробітник
лабораторії біохімії ДУ «Інститут урології НАМНУ»
Адреса: Обсерваторний провулок, 3, Київ, 02000, Україна
e-mail irinaserbina@gmail.com
Тел.: (067) 991 54 36

Сербина Ирина Евгениевна,

Научный сотрудник
лаборатории биохимии ДУ «Институт урологии НАМНУ»
Адрес: Обсерваторный переулок, 3, Киев, 02000, Украина
e-mail irinaserbina@gmail.com
Тел.: (067) 991 54 36

Serbina Iryna

Researcher at the Laboratory of Biochemistry,
State Institution «Institute of Urology NAMS»
Address: Observatory Lane, 3, Kyiv, 02000, Ukraine
e-mail irinaserbina@gmail.com
tel. (067) 991 54 36

Каліщук Олесь Аркадійович,

Канд.мед.наук, Старший наук. співробітник відділу дитячої урології ДУ «Інститут урології НАМНУ»
Адреса: Обсерваторний провулок, 3, Київ, 02000, Україна
e-mail oles01@ukr.net
Тел.: (098) 035-14-86 (сл)

Каліщук Олесь Аркадійович,

Канд.мед.наук, Старший научн. сотрудник
отдела детской урологии ДУ «Институт урологии НАМНУ»
Адрес: Обсерваторный переулок, 3, Киев, 02000, Украина
e-mail oles01@ukr.net
Тел.: (098) 035-14-86 (сл)

Kalishchuk Oles

Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Department of pediatric urology, State Institution «Institute of Urology NAMS»
Address: Observatory Lane, 3, Kyiv, 02000, Ukraine
e-mail oles01@ukr.net
tel. (098) 035-14-86 (сл)

Стаття надійшла до редакції 15.01.2020р.