

## УРОВЕНЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ФИБРОГЕНЕЗА И ОБМЕНА КОЛЛАГЕНА В МОЧЕ ДЕТЕЙ С РАЗНЫМИ ВАРИАНТАМИ КОРРЕКЦИИ ВЕЗИКО-УРЕТЕРАЛЬНОГО РЕФЛЮКСА

Макеева Н. И. (makeevanataly313@gmail.com),

Морозова О. О. (oksanamorozova1612@gmail.com)

Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина

*Везико-уретеральный рефлюкс (ВУР) приводит к формированию нефросклероза у 48% детей с дисплазией соединительной ткани.*

*Цель. Определить клиническое значение уровня мочевого экскреции биологических маркеров фиброгенеза (TGF-β1) и показателей обмена коллагена у детей с хроническим пиелонефритом после консервативной, эндоскопической и оперативной коррекции ВУР для прогнозирования развития нефросклероза.*

*Материал и методы. Обследованы 69 детей в возрасте от 2 до 16 лет, с разными вариантами коррекции ВУР II-V степени, в периоде клинко-лабораторной ремиссии пиелонефрита.*

*Результаты. Выявлено достоверно значимое повышение показателей экскреции TGF-β1 ( $p < 0,0001$ ), свободного ( $p < 0,0000$ ) и пептид-связанного ( $p < 0,0000$ ) оксипролина в моче всех детей с ВУР независимо от метода коррекции по сравнению с соответствующими показателями детей контрольной группы.*

*Выводы. Уровни мочевого экскреции TGF-β и фракций оксипролина могут быть использованы в качестве маркеров развития нефросклероза у детей с ВУР.*

**Ключевые слова:** везико-уретеральный рефлюкс, нефросклероз, TGF-β1, оксипролин.

### Введение

По данным разных авторов, недифференцированная дисплазия соединительной ткани наблюдается у 20-70% детей в популяции [1, 2]. Установлено, что все дети с врожденной аномалией органов мочевыводящей системы имеют недифференцированный вариант дисплазии соединительной ткани, что является основой ее формирования [3, 4, 5]. У 35% детей с дисплазией соединительной ткани диагностируется везико-уретеральный рефлюкс (ВУР), в то время как у детей без признаков дисплазии соединительной ткани – лишь в 9,4% случаев [6]. Известно, что даже односторонний ВУР малых степеней приводит к необратимому повреждению и рубцеванию почечной паренхимы с последующим развитием хронической болезни почек уже в детском возрасте. По данным Международного комитета по изучению рефлюкса, частота развития нефросклероза при ВУР среди детей европейской популяции составляет 48% [7]. В последнее время внимание клиницистов сосредоточено на проблеме поиска ранних маркеров повреждения почек у детей с ВУР [8, 9, 10]. Результаты проведенных клинических исследований свидетельствуют о высокой степени корреляции между соединительнотканной дисплазией и дисбалансом цитокинового профиля, влияющего на возникновение нарушений регуляции метаболизма коллагена [11]. Однако данные по исследованию маркеров-предикторов фиброгенеза в моче детей с разной степенью ВУР на этапах его консервативного, эндоскопического и оперативного лечения малочисленны и противоречивы [12].

**Цель** исследования – определить клиническое значение уровня мочевого экскреции биологических маркеров фиброгенеза (TGF-β1) и показателей обмена коллагена у детей с хроническим пиелонефритом после консервативной,

эндоскопической и оперативной коррекции ВУР для прогнозирования развития нефросклероза.

### Материал и методы

Обследованы 69 детей в возрасте от 2 до 16 лет с II-V степенью ВУР после консервативной, эндоскопической и оперативной коррекции в периоде клинко-лабораторной ремиссии пиелонефрита (более трех месяцев после последнего эпизода обострения). Пациенты были распределены на три группы. В 1-ю группу (n=27) вошли пациенты с пиелонефритом и I-II степенью ВУР или после его завершения на этапе консервативного лечения ВУР, во 2-ю группу (n=18) – пациенты с пиелонефритом и III-IV степенью ВУР после эндоскопической коррекции ВУР, в 3-ю группу (n=5) – пациенты с пиелонефритом и V степенью ВУР после оперативного лечения. Контрольную группу составили 16 практически здоровых детей того же возраста без хронической патологии и без явных признаков острых заболеваний на протяжении последних двух месяцев. Всем детям обследование, верификация диагноза «пиелонефрит» и его лечение проводились согласно стандартным протоколам. Степень ВУР определяли в зависимости от уровня заброса рентгеноконтрастного вещества из мочевого пузыря по мочеточнику, степени расширения мочеточника и собирательной системы почки. Дополнительно у детей в суточной моче методом иммуноферментного анализа определяли уровень экскреции TGF-β1 с помощью наборов Platinum ELISA (Австрия), в соответствии с инструкциями производителя. Уровни свободного и пептид-связанного оксипролина в утренней моче исследовали по методу П. Н. Шарая (1996). Статистический анализ проводили с использованием StatSoft STATISTICA Version 7 (Tulsa, OK). Для выборок с распределением, не подчиняющимся закону Гауса, определяли

медиану (Me) и межквартильный размах (Lq – нижний квартиль; Uq – верхний квартиль). Для сравнения двух выборок использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни (MW). Разницу между сравниваемыми показателями считали статистически значимой при  $p < 0,05$ . При сравнении показателей, которые характеризовались сравнением более 2 точек, использовали критерий дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса (KW). При сравнении показателей групп с единым контролем статистически значимой разницу считали с учетом поправки Бонферрони при  $p' = p/n-1$ , где  $n$  – количество групп. Запланированное клиническое исследование было одобрено комитетом по медицинской этике Харьковского национального медицинского университета и проводилось в соответствии с руководящими принципами Хельсинкской декларации. Все участники и/или их родители дали письменное информированное согласие на участие.

### Результаты и обсуждение

Анализ полученных результатов выявил статистически достоверное повышение показателей экскреции TGF- $\beta$ 1 в моче у всех детей с ВУР в сравнении с соответствующими показателями детей контрольной группы (рк-1=0,000028, рк-2=0,00069 и рк-3=0,0168), независимо от степени рефлюкса и выбранного метода коррекции ВУР, что отражает роль профиброгенного медиатора TGF- $\beta$ 1 в развитии склеротического процесса в тубулоинтерстициальной ткани почек при разных методах коррекции ВУР (табл.). Однако достоверно статистически значимых межгрупповых различий показателей мочевой экскреции TGF- $\beta$ 1 у пациентов исследуемых групп не выявлено (р1-2=0,094, р1-3=0,1573 и р2-3=0,0168). Установлено, что процессы склерозирования почечной паренхимы заключаются в развитии фиброза с образованием рубца, а коллаген является основным компонентом экстрацеллюлярного матрикса соединительной ткани. При хроническом воспалении в тубулоинтерстициальной ткани почек у пациентов с ВУР под воздействием воспалительных и фиброзирующих цитокинов происходит стимуляция синтеза коллагена с постепенным склерозированием паренхимы почек. Маркером усиленного синтеза коллагена служит повышение свободной и пептид-связанной фракции оксипролина в моче [13]. В проведенном исследовании у всех детей с ВУР на разных этапах консервативного лечения после проведенной эндоскопической или оперативной коррекции ВУР показатели мочевой экскреции свободного (рк-1=0,000000, рк-2=0,000002 и рк-3=0,000950) и пептид-связанного (рк-1=0,000000, рк-2=0,000006 и рк-3=0,004966) оксипролина были достоверно выше в сравнении с показателями у детей в контрольной группе (табл.). Однако достоверно статистически значимых различий показателей экскреции свободного и пептид-связанного оксипроли-

на в моче у детей исследуемых групп не выявлено (р1-2=0,3191, р1-3=0,4517 и р2-3=0,2635) и (р1-2=0,2761, р1-3=0,8558 и р2-3=0,7093, соответственно). Зафиксированное повышение уровней мочевой экскреции фракций оксипролина у детей с ВУР, вероятно, свидетельствует о нарушении метаболизма соединительной ткани с формированием фиброза в паренхиме почек. После проведения множественного сравнения показателей биологических маркеров фиброгенеза установлено, что критерий Краскела-Уоллиса (H) был статистически высоко значимым как при исследовании показателей экскреции с мочой TGF- $\beta$ 1 (H=21,39,  $p < 0,0001$ ), так и показателей мочевой экскреции свободного (H=35,68,  $p < 0,0000$ ) и пептид-связанного оксипролина (H=32,12,  $p < 0,0000$ ). Это дает основание утверждать, что статистические характеристики соответствующих показателей разных групп значимо различаются между собой, а уровни лабораторных показателей, которые исследовались, зависят только от наличия ВУР и не зависят от выбранного метода его коррекции.

Установлена положительная корреляционная связь между уровнями TGF- $\beta$ 1 и исследуемых фракций оксипролина ( $r = +0,44$ ,  $p = 0,00027$ ), что подтверждает однонаправленность изменений показателей, изучаемых при формировании нефросклероза у детей с ВУР.

### Выводы

1. Повышение уровня мочевой экскреции TGF- $\beta$ 1, свободной и пептид-связанной фракций оксипролина у детей с ВУР и хроническим пиелонефритом в стадии клинко-лабораторной ремиссии отражает развитие ремоделирования паренхимы почек, которое продолжается независимо от варианта коррекции ВУР, что позво-

**Таблица** – Статистические характеристики показателей мочевой экскреции TGF- $\beta$ 1, свободного, пептид- и белковосвязанного оксипролина у детей с ВУР, Me (Lq; Uq)

Показатель мочевой экскреции	Дети с ВУР			Группа контроля (n=16)
	1-я группа (n=27)	2-я группа (n=18)	3-я группа (n=5)	
TGF- $\beta$ 1, пг/мл	78,15 <sup>k</sup> (36,73; 157,70)	68,80 <sup>k</sup> (27,10; 87,50)	30,75 <sup>k</sup> (29,10; 40,50)	14,00 (3,10; 29,15)
оксипролин пептид-связанный, мкг/мл	6,03 <sup>k</sup> (5,03; 6,89)	5,66 <sup>k</sup> (4,72; 6,41)	6,77 <sup>k</sup> (4,11; 7,01)	3,01 (2,88; 3,13)
оксипролин свободный, мкг/мл	1,61 <sup>k</sup> (1,39; 1,74)	1,54 <sup>k</sup> (1,29; 1,66)	1,55 <sup>k</sup> (1,51; 1,79)	1,10 (1,02; 1,15)

Примечание:  $n$  – количество пациентов соответствующей группы, которым проведено определение данного показателя; Me – медиана, Lq – нижний квартиль, Uq – верхний квартиль. <sup>k</sup> – вероятное отличие от показателей группы контроля

ляет объединить этих пациентов в группу риска развития нефросклероза.

2. Уровни экскреции биологических маркеров фиброгенеза и обмена коллагена с мочой могут служить в качестве маркеров развития рубцевания почечной паренхимы у детей с ВУР.

3. Таким образом, уровни мочевой экскреции TGF- $\beta$ 1, свободной и пептид-связанной фракций оксипролина могут быть использованы для оценки эффективности проведенной терапии, а также для определения дальнейшей тактики лечения и диспансерного наблюдения за пациентами с ВУР.

### Литература

1. Иванова, И. И. Особенности течения болезней мочевыделительной системы у детей с дисплазией соединительной ткани (обзор литературы) / И. И. Иванова, С. Ф. Гнусаев, Н. Ю. Коваль // Российский педиатрический журнал. – 2012. – № 4. – С. 32-35.
2. Калаева, Г. Ю. Клинико-функциональные проявления недифференцированной дисплазии соединительной ткани у подростков / Г. Ю. Калаева, А. Х. Зайцева, О. И. Хохлова // Педиатрия. – 2012. – Т. 91, № 2. – С. 135-139.
3. Мамбетова, А. М. Степень тяжести дисплазии соединительной ткани у детей: связь с характером перинатальной патологии и течением вторичного хронического пиелонефрита / А. М. Мамбетова, Р. А. Жетишев, Н. Н. Шабалова // Педиатрия. – 2011. – Т. 90, № 3. – С. 12-17.
4. Крыганова, Т. А. Частота аномалий органов мочевой системы и функциональное состояние почек в зависимости от степени выраженности дисплазии соединительной ткани у детей / Т. А. Крыганова, В. В. Длин // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2016. – № 3. – С. 81-86. – doi: 10.21508/1027-4065-2016-61-3-81-86.
5. Няньковский, С. Л. Метаболічна терапія та її роль у комплексному лікуванні дисплазії сполучної тканини у дитячій нефрології / С. Л. Няньковский, О. О. Добрик, М. Ю. Іськів // Современная педиатрия. – 2016. – Т. 1, № 73. – С. 131-136. – doi: 10.15574/SP.2016.73.131.
6. Крыганова, Т. А. Пузырно-мочеточниковый рефлюкс и его осложнения у детей в зависимости от степени выраженности дисплазии соединительной ткани / Т. А. Крыганова, М. Е. Аксенова, В. В. Длин // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2016. – № 4. – С. 93-97. – doi: 10.21508/1027-4065-2016-61-4-93-97.
7. Лавренчук, О. В. Хроническая болезнь почек: рефлюкс-нефропатия у детей / О. В. Лавренчук, И. В. Багдасарова // Международный журнал педиатрии, акушерства и гинекологии. – 2016. – Т. 9, № 3. – С. 13-16.
8. Chemokines as potential markers in pediatric renal diseases. / A. C. Simoes e Silva [et al.] // Biomarkers in Kidney Disease. – 2014. – Vol. 1. – P. 1-9.
9. Чичуга, Е. М. Маркеры хронической болезни почек у детей с обструкцией мочевых путей или пузырно-мочеточниковым рефлюксом / Е. М. Чичуга, Т. Л. Настаушева, Т. Г. Звягина // Педиатрическая фармакология. – 2015. – Т. 12, № 4. – С. 407-413. – doi: 10.15690/pf.v12i4.1421.
10. Шамитова, Е. Н. Подоцитарные маркеры в моче / Е. Н. Шамитова, В. О. Романов // Успехи современной науки и образования. – 2016. – Т. 6, № 11. – С. 107-110.
11. Волошин, А. Н. Недифференцированная дисплазия соединительной ткани и респираторные заболевания

- у детей и подростков (обзор литературы) / А. Н. Волошин, О. Ю. Чумак // Здоровье ребенка. – 2017. – Т. 12, № 6. – С. 720-727. – doi: 10.22141/2224-0551.12.6.2017.112842.
12. Лакомова, Д. Ю. Индекс раннего повреждения почек у детей с пузырно-мочеточниковым рефлюксом / Д. Ю. Лакомова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2012. – Т. 8, № 2. – С. 318-324.
13. Зайкова, Н. М. Клиническое значение гидроксипролиурии у детей с рефлюкс-нефропатией / Н. М. Зайкова // Нефрология. – 2013. – Т. 17, №3. – С. 68-74.

### References

1. Ivanova II, Gnusaev SF, Koval NYu. Osobnosti techeniya bolezney mochevydelitelnoy sistemy u detey s displaziei soedinitelnoy tkani (obzor literatury) [The features of the course of urinary tract disease in children with connective tissue dysplasia (literature review)]. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal* [Russian Journal of Pediatrics]. 2012;4:32-35. (Russian).
2. Kalaeva GYu, Zaytseva AKh, Khokhlova OI. Kliniko-funktsionalnye proyavleniya nedifferentsirovannoy displazii soedinitelnoy tkani u podrostkov [Clinicalfunctional manifestations of an undifferentiated dysplasia of the connective tissue at teenagers]. *Pediatriya* [Pediatrics]. 2012;91(2):135-139. (Russian).
3. Mambetova AM, Zhetishev RA, Shabalova NN. Stepen tyazhesti displazii soedinitelnoy tkani u detey: svyaz s kharakterom perinatalnoy patologii i techeniem vtorichnogo khronicheskogo pielonefrita [The severity of connective tissue dysplasia in children: the relationship with the nature of perinatal pathology, and the passage of secondary chronic pyelonephritis]. *Pediatriya* [Pediatrics]. 2011;90(3):12-17. (Russian).
4. Kryganova TA, Dlin VV. Chastota anomalii organov mochevoy sistemy i funktsionalnoe sostoyanie pochek v zavisimosti ot stepeni vyrazhennosti displazii soedinitelnoy tkani u detey [The rate of urinary tract abnormalities and the functional state of kidneys in relation to the degree of connective tissue dysplasia in children]. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii* [Russian bulletin of perinatology and pediatrics]. 2016;3:81-86. doi: 10.21508/1027-4065-2016-61-3-81-86. (Russian).
5. Njankovskij SL, Dobrik OO, Iskiv MJu. Metabolichna terapija ta ii rol u kompleksnomu likuvanni displazii spoluchnoi tkanyny u dytjachij nefrologii. *Sovremennaja pediatrija*. 2016;1(73):131-136. doi: 10.15574/SP.2016.73.131. (Ukrainian).
6. Kryganova TA, Aksenova ME, Dlin VV. Puzyrno-mochetochnikovyj refljuks i ego oslozhnenija u detej v zavisimosti ot stepeni vyrazhennosti displazii soedinitelnoj tkani [Vesicoureteral reflux and its complications in children in relation to the degree of connective tissue dysplasia]. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii*. 2016;4:93-97. doi: 10.21508/1027-4065-2016-61-4-93-97. (Russian).
7. Lavrenchuk OV, Bagdasarova IV. Hronicheskaja bolezni

- poček: refljuxs-nefropatija u detej [Chronic kidney disease: reflux nephropathy in children]. *Mezhdunarodnyj zhurnal pediatrii, akusherstva i ginekologii* [International journal of pediatrics, obstetrics and gynecology]. 2016;9(3):13-16. (Russian).
8. Simoes e Silva AC, Pereira AB, Teixeira MM, Teixeira AL. Chemokines as potential markers in pediatric renal diseases. *Biomarkers in Kidney Disease*. 2014;1:1-9.
  9. Chichuga EM, Nastausheva TL, Zvjagina TG. Markery hronicheskoj bolezni poček u detej s obstrukciej močevyh putej ili puzyrno-mochetochnikovym refljuxsom [Markers of chronic idney disease in children with obstructive uropathy or vesicoureteral reflux]. *Pediatricheskaja farmakologija* [Pediatric pharmacology]. 2015;12(4):407-413. doi: 10.15690/pf.v12i4.1421. (Russian).
  10. Shamitova EN, Romanov VO. Podocitarnye markery v moche [Podocyte markers in urine]. *Uspehi sovremennoj nauki i obrazovanija* [Success of modern science and education]. 2016;6(11):107-110. (Russian).
  11. Voloshin AN, Chumak OJu. Nedifferencirovannaja displazija soedinitelnoj tkani i respiratornye zabolevanija u detej i podrostkov (obzor literatury). *Zdorove rebenka*. 2017;12(6):720-727. doi: 10.22141/2224-0551.12.6.2017.112842. (Ukrainian).
  12. Lakomova DJu. Indeks rannego povrezhdenija poček u detej s puzyrno-mochetochnikovym refljuxsom [Index of early renal damage in children with vesicoureteral reflux]. *Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal* [Saratov Journal of Medical Scientific Research]. 2012;8(2):318-324. (Russian).
  13. Zajkova NM. Klinicheskoe znachenie gidroksiprolinurii u detej s refljuxs-nefropatiej [Hydroxyprolinurias clinical significance in children with reflux-nephropathy]. *Nefrologija* [Nephrology]. 2013;17(3):68-74. (Russian).

## LEVEL OF BIOMARKERS OF FIBROGENESIS AND EXCHANGE OF COLLAGEN IN THE URINE OF CHILDREN WITH VARIOUS VARIANTS OF VESICOURETERAL REFLUX REPAIR.

Makieieva N. I., Morozova O. O.

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

*Abstract. The vesicoureteral reflux (VUR) provokes development of nephrosclerosis in 48% of children with connective tissue dysplasia.*

*Aim: Detection of clinical significance of biological markers of fibrogenesis (TGF- $\beta$ 1) and indices of collagen metabolism urine excretion in children with chronic pyelonephritis after conservative, endoscopic and operative correction of VUR for predicting the development of renal scarring was the aim of this trial.*

*Material and Methods. 69 patients from 2 to 16 years with various variants of VUR (II-V grade) repair in a period of clinical-laboratory remission of pyelonephritis were examined.*

*Results. We have found a significantly higher TGF- $\beta$ 1 ( $p < 0,0001$ ), free oxyproline ( $p < 0,0000$ ) and peptid-binded oxyproline ( $p < 0,0000$ ) urinary excretion in children with VUR regardless of the method of repair in comparison with children of control group.*

*Conclusions. Thus, urinary excretion of TGF- $\beta$ 1 and oxyproline fractions can be used as markers for the development of renal parenchyma scarring in children with VUR.*

**Keywords:** vesicoureteral reflux, renal scarring, TGF- $\beta$ , oxyproline.

Поступила: 08.05.2018

Отрецензирована: 27.06.2018