

На правах рукописи

РУСАКОВ АРТЕМ АШОТОВИЧ

**Маркеры воспаления, склерозирования и регенерации почечной ткани при
односторонних обструктивных уропатиях у детей до и после оперативного
восстановления уродинамики**

14.01.19 - Детская хирургия

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва - 2016

Работа выполнена в федеральном государственном автономном учреждении
«Научный центр здоровья детей»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Шарков Сергей Михайлович

Научный консультант:

доктор медицинских наук

Семикина Елена Леонидовна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор,
главный научный сотрудник НИИ хирургии детского возраста ГБОУ ВПО
«Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова» Минздрава России

Гельдт Вадим Георгиевич

доктор медицинских наук, профессор,
заместитель директора по научно-лечебной работе и главного врача клиники
ФГБУ "Российский научный центр рентгенорадиологии" Минздрава России

Павлов Андрей Юрьевич

Ведущая организация:

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского».

Защита состоится «20» сентября 2016 года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 001.023.01 при ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России по адресу: 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр.1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России по адресу: 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр.1 и на сайте <http://www.nczd.ru>.

Автореферат разослан « __ » _____ 2016 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор РАН

Винярская Ирина Валериевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность

Одной из актуальных проблем в детской урологии является нарушение оттока мочи в различных уродинамических узлах. Основной причиной нарушения уродинамики часто являются обструктивные уропатии: гидронефроз, мегауретер, пузырно-мочеточниковый рефлюкс (М. Lewis 2007).

В последние годы активно изучаются патогенетические механизмы формирования нефросклероза, доказано участие многих факторов прогрессирования поражения почек при обструктивных уропатиях. Известно, что нефросклероз формируется у 30-60% пациентов с нарушением уродинамики (В.И. Кириллов, Н.А. Богданова 2012; П.К. Яцык, В. Звара 1990).

Проведены работы по изучению зависимости активности течения воспалительного процесса в почках от концентрации различного рода медиаторов воспаления в сыворотке крови, а также в моче (М. Aydin., Е. Ozkok., О. Ozturk 2007). Однако все еще недостаточно данных о клеточном составе мочи и балансе медиаторов воспаления и нефросклероза до и после оперативного лечения, в различные сроки после восстановления уродинамики.

Доказано, что повышение внутриуретерального и внутримоханочного давления приводит к активации клеток канальцев и эндотелия сосудов и способствует продукции ими различных медиаторов воспаления. В ответ на гипоксию почечной паренхимы происходит активация ангиотензина II, который обладает просклеротическим действием, стимулируя синтез трансформирующего фактора роста TGF- β 1. Вопрос о том, в какие сроки заболевания начинается синтез TGF- β 1 и появляется риск развития нефросклероза, пока мало изучен (А. Khwaja 2007., М. Grande 2010).

Установлено, что в процессах роста и развития почек активно участвуют также факторы ангиогенеза - фактор роста сосудистого эндотелия, ангиопоэтин, фоллистатин (В. Millauer. et al 1993). В экспериментальных работах показаны изменения их уровней при нефропатиях различного генеза, но характер продукции этих медиаторов при односторонних уропатиях изучен мало.

Работами последних лет показано участие в формировании воспаления

мочевых путей белка Тамма-Хорсфолла, или уромодулина, который регулирует адгезию бактерий к эндотелиальным клеткам (P. Vyletal. et al 2010).

Особенности продукции этого медиатора при односторонних поражениях также еще не изучены.

В практической лечебной работе основным лабораторным методом оценки воспалительных процессов в мочевых путях является общий клинический анализ мочи. Современные анализаторы позволяют точно количественно оценить уровень лейкоцитов и эритроцитов. Однако проведение рутинного исследования мочи из мочевого пузыря не позволяет оценить наличие воспалительного процесса в почке при одностороннем поражении за счет разведения мочой здоровой контрлатеральной почки.

Разноречивые данные клинических, лабораторных и морфологических исследований, отсутствие единого мнения о степени воспалительного процесса и инфицированности пораженной почки и сроках оперативного восстановления уродинамики, возможность искажения показателей в анализах мочи за счет разведения мочой из контрлатеральной почки послужило поводом для проведения нашего исследования.

Цель работы: установить влияние нарушения уродинамики на процессы воспаления, склерозирования и регенерации почечной ткани при односторонних обструктивных уропатиях у детей.

Задачи исследования

1. Определить различия форменных элементов мочи в пораженной почке и мочевом пузыре при различных видах монолатеральных обструкций и охарактеризовать их клиническое значение.

2. Определить взаимосвязь между клеточным составом мочи и уровнем медиаторов воспаления и факторов склерозирования пораженной почки.

3. Оценить динамику комплекса показателей клеточного состава и количество бактерий мочи в пораженной почке до и в ранние сроки после оперативного лечения.

4. Оценить динамику клеточного состава мочи и уровень медиаторов воспаления в катамнезе.

5. Оптимизировать тактику хирургического лечения больных с молатеральной обструкцией.

Научная новизна

Впервые у детей с молатеральным гидронефрозом и обструктивным мегауретером в моче на стороне поражения исследован комплекс маркеров воспаления, склерозирования и регенерации почечной ткани.

Изучение этих показателей до операции и после оперативного вмешательства, а также в катамнезе, позволили получить приоритетные доказательства следующих положений:

1. Нарушения уродинамики осложняются локальным воспалением собирательной системы и паренхимы почки, что подтверждается бактериальной лейкоцитурией, повышенной экскрецией провоспалительных цитокинов и низкой концентрацией уромулина, способствующей адгезии микробных тел к эндотелию мочевых путей.

2. При односторонних обструктивных уropатиях у детей паренхима почки на стороне поражения сохраняет способность синтезировать не только провоспалительные цитокины, но и факторы регенерации тканей. Доказательством этого положения являются установленные: высокое содержание IL-8 и G-CSF, фоллистатина и ангиопоэтина в моче из пораженной почки по сравнению с мочой из мочевого пузыря; корреляционные связи между концентрацией провоспалительных цитокинов и факторов регенерации; а также стабильный уровень фактора роста сосудистого эндотелия VEGF-A.

3. Восстановление адекватной уродинамики создает условия для нормального роста и развития почки, в том числе за счет купирования локального воспаления.

Практическая значимость

1. У детей с односторонней обструкцией мочевых путей в случаях появления симптомов инфекции неясного происхождения при нормальных анализах мочи, полученной из мочевого пузыря, следует иметь в виду возможность локального воспаления в пораженной почке.

2. Обнаруженная тесная корреляция между лейкоцитурией и выраженностью повышения продукции провоспалительных цитокинов позволяет считать современный автоматизированный метод анализа мочи с помощью проточной урочитометрии информативным для выявления воспаления в органах мочевыводящей системы, в том числе – локального воспаления у детей с односторонними обструктивными уропатиями при исследовании мочи из пораженной почки.

3. Оперативная коррекция уродинамики при молатеральном гидронефрозе и обструктивном мегауретере сопровождается разрешением воспалительного процесса уже в ранние сроки после операции и завершением его у большинства больных через 5-6 месяцев после вмешательства.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в практическую деятельность отделения репродуктивного здоровья федерального государственного автономного учреждения «Научный центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, хирургического отделения № 1 ОБУЗ «Ивановская областная детская клиническая больница».

Апробация работы

Материалы диссертации доложены и обсуждены на XVII съезде педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва 2013), на втором съезде детских урологов МООДУА (21 апреля Москва 2013), на Московской областной конференции: «Актуальные вопросы детской урологии» (г. Видное 12 декабря 2013), на четвертом съезде детских урологов МООДУА (4 апреля Москва 2015) и на Московской областной конференции: «Актуальные вопросы детской урологии» (г. Видное 19 ноября 2015).

Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 119 страницах машинописного текста, состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и указателя

используемой литературы. Библиография включает 203 источника, из них 28 отечественных и 175 зарубежных. Работа иллюстрирована 17 рисунками и 31 таблицей.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объем и методы исследования

Работа выполнена на базе федерального государственного автономного учреждения «Научный центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор - академик РАН, д.м.н., профессор А.А. Баранов) в отделении репродуктивного здоровья детей (руководитель - д.м.н. проф. С.П.Яцык) и централизованной клинико-диагностической лаборатории (руководитель – д.м.н. Е.Л.Семикина). В соответствии с задачами диссертационной работы было обследовано 90 детей, 65 больных с обструктивными уропатиями (48 мальчиков и 17 девочек) и 25 детей группы сравнения. Распределение детей с обструктивными уропатиями по возрасту и полу представлено в табл. 1.

Таблица 1

Распределение больных с моностеральной обструкцией по полу и возрасту

Формы обструкции	Возраст						Всего
	0-1 год		2-3 года		4-10 лет		
	м	д	м	д	м	д	
Обструктивный мегауретер	15	2	3	0	2	2	24
Гидронефроз	21	10	3	2	4	1	41
Итого	36	12	6	2	6	3	65

Группа сравнения представлена 25 пациентами (17 мальчиков и 8 девочек) в возрасте от 0 до 10 лет, госпитализированными в отделение репродуктивного здоровья детей ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России для планового хирургического лечения (неосложненные паховые и пупочные грыжи, рубцовый фимоз). В ходе проведенного обследования сопутствующей уронефрологической патологии у данных пациентов обнаружено не было.

Диагностика различных форм обструктивных уропатий у всех обследованных

детей проводилась в соответствии с классификацией клинических форм данной патологии. Пациенты были распределены на две группы в зависимости от формы обструкции: дети с односторонним гидронефрозом (ГН) и с односторонним обструктивным мегауретером (ОМУ). Все дети, включенные в исследование, проходили комплексное клиническое и лабораторно-инструментальное обследование. Перед проведением урологических исследований и оперативных манипуляций у родителей всех наблюдавшихся детей было получено добровольное информированное согласие.

При выполнении лабораторных исследований мочи проведено сравнение показателей общего анализа мочи, собранного рутинным способом перед операцией, с образцами мочи, полученными интраоперационно непосредственно из почки на стороне поражения. При молатеральном гидронефрозе II стадии взятие мочи осуществлялось непосредственно из лоханочно-мочеточникового стента, после эндоскопического бужирования ЛМС. При одностороннем гидронефрозе III стадии взятие мочи осуществлялось пункционно, непосредственно перед резекцией ЛМС и далее в ранние послеоперационные сроки из пиелостомического дренажа, перед его удалением. В случае одностороннего обструктивного мегауретера взятие мочи проводилось перед резекцией предпузырного отдела пораженного мочеточника; в ранние послеоперационные сроки проба мочи собиралась из мочеточникового дренажа перед его удалением.

Исследование нативной мочи (количество лейкоцитов и эритроцитов) осуществлялось с помощью современного стандартизованного метода проточной урочитометрии на автоматическом анализаторе.

Лабораторная диагностика молатеральных обструктивных уропатий включала в себя:

общий анализ мочи. Физико-химические показатели мочи определялись на автоматическом анализаторе URYSYS 2400 с помощью фотометрического определения показателей «сухой химии». Клеточный состав осадка мочи исследован на автоматическом анализаторе Sysmex UF 1000i с помощью метода проточной урочитометрии, который основан на оценке комплекса показателей лазерного сканирования клеток и позволяет определить в образце количество клеток

«мочевого осадка» и содержание бактерий; исследуется нативная моча, что значительно снижает искажения в процессе пробоподготовки. В связи с этим мы используем в работе вместо общепринятого термина «клетки мочевого осадка» более корректный в данном случае термин «клеточный состав мочи». Верхняя граница нормы при таком способе оценки одинакова для лейкоцитов и эритроцитов – не более 20 клеток в 1 мкл нативной мочи, нормальный уровень количества бактерий составляет не более 40 в 1 мкл;

Общий анализ крови, показатели которого у большинства детей находились в пределах возрастной нормы;

Биохимический анализ крови, в котором оценивались показатели функции почек - мочевины и мочевая кислота, креатинин, а также с-реактивный белок, характеризующий наличие системного воспаления. Признаков системных воспалительных реакций или нарушения функции почек у обследованных детей не выявлено;

Посев мочи проводился всем детям, рост микрофлоры отмечен у 7 из 41 пациента с ГН и 4 из 24 детей с ОМУ. Антибиотикорезистентность микроорганизмов изучалась диско-диффузионным методом на среде Мюллера-Хинтона (диски BBL, USA), бактериологическим анализатором Vitek (BioMerieux).

В соответствии с поставленными задачами определялась концентрация медиаторов воспаления, склерозирования и факторов ангиогенеза в моче. Концентрации трансформирующего фактора роста (TGF- β 1) и уромодулина определяли с помощью иммуноферментного анализа (тест-системы «Human TGF- β 1 Platinum», Bender MedSystems, США и «ИФА-БТХ» набор для определения белка Тамма-Хорсфолла в моче человека, ООО «Полингост» г. Санкт-Петербург, соответственно). Определение медиаторов воспаления (IL-8, G-CSF) и факторов ангиогенеза (ангиопоэтин, фоллистатин, VEGF-A) проведено с помощью высокоточного метода мультиплексного анализа на двулучевом лазерном автоматическом анализаторе (BioPlex Protein Assay System, BioRad, США).

Инструментальная диагностика монолатеральных обструктивных уропатий включала в себя ультразвуковое исследование почек, мочеточников и мочевого пузыря (табл. 2).

Изменения кровотока в почках у детей при односторонних обструктивных уропатиях

Форма обструкции	Прослеживается во всех отделах	Умеренно снижен по полюсам	Умеренно снижен в корковом слое	Кровоток резко снижен	Всего
ГН пораженная почка	2	24	11	4	41
ГН контрлатеральная почка	37	4	-	-	
ОМУ пораженная почка	2	9	11	2	24
ОМУ контрлатеральная почка	22	2	-	-	

По данным ультразвукового исследования у обследованных детей выявлено, что кровоток контрлатеральной почки прослеживался во всех отделах у 37 из 41 ребенка с ГН и у 22 из 24 детей с ОМУ. Снижение кровотока по полюсам отмечено у 2 детей с ОМУ и 4 с ГН, других изменений не выявлено.

Функциональное состояние почечной паренхимы и размеры собирательной системы почек до и после микции оценивались методами рентген-лучевой диагностики.

Микционная цистоуретрография: выполнялась всем пациентам с обструктивным мегауретером, для исключения рефлюксирующего типа данной патологии, применялись 10-15% растворы неионных низкоосмолярных или изоосмолярных рентгенконтрастных веществ (РКВ).

Экскреторная урография: проводилась всем пациентам, в качестве контрастных веществ использовались неионные низко - или изоосмолярные препараты; доза вводимого РКВ зависела от клиренса креатинина и в среднем составляла 0,5-0,6 мл/кг массы тела. Скорость инфузии составляла 0,2 мл/с.

Радионуклидные исследования (статическая нефросцинтиграфия) с микционной пробой проведены 25 пациентам (табл. 3); было выявлено снижение распределения РФП в пораженной почке. Структурных изменений паренхимы здоровой контрлатеральной почки выявлено не было.

Изменения функционального состояния паренхимы пораженной почки по данным статической нефросцинтиграфии

Форма обструкции	Снижение распределения РФП	Снижение индекса интегрального захвата	Очаговые изменения паренхимы пораженной почки	Всего
Монолатеральный гидронефроз	8	6	-	8
Обструктивный односторонний мегауретер	17	12	3	17
Итого	25	18	3	25

Гистологические исследования: инцизионные лоханочно-мочеточниковые сегменты, полученные интраоперационно, были исследованы с помощью световой микроскопии с использованием окраски гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону, полутонких срезов – толуидиновым синим-азуром П-фуксином в патологоанатомической лаборатории ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России.

Анализ данных включал расчет средних величин, стандартных отклонений, стандартных ошибок, минимума, максимума, критерия Стьюдента, корреляции Пирсона. Для описания количественных показателей использовались среднее \pm стандартное отклонение при нормальном распределении признака. Для выборок, не подчинявшихся нормальному распределению, оценивалась медиана. Вероятность ошибки $p < 0,05$ расценивали как значимую, $p < 0,01$ — как очень значимую, $p < 0,001$ — как максимально значимую. Расчеты проводились с использованием компьютерных программ «Microsoft Office Excel 2003» и «Statistica 6.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе клинического течения заболевания важно отметить, что у большинства пациентов течение заболевания было бессимптомным, без каких-либо жалоб и без выраженной лейкоцитурии и бактериурии в общем анализе мочи.

После подтверждения диагноза и определения показаний к хирургическому лечению проведено 65 операций по восстановлению нарушенной уродинамики. В зависимости от вида односторонней обструкции, использовались различные

методики хирургического лечения (табл. 4).

Таблица 4

Виды оперативного лечения у детей с односторонними обструктивными уропатиями

Методики хирургического лечения	Количество исследуемых детей		Всего
	мальчики	девочки	
Бужирование ЛМС со стентированием	9	4	13
Пластика лоханочно-мочеточникового сегмента по Hynes-Anderson	19	9	28
Операция по методике Politano-Leadbetter	20	4	24
Итого	48	17	65

У 13 детей с гидронефрозом II стадии (9 мальчиков и 4 девочки), выполнялось эндоскопическое бужирование ЛМС с последующей установкой наружного мочеточникового стента. Для бужирования ЛМС и стентирования мочеточников применялись баллонные катетеры и уретеральные стенты диаметром 3 и 5 по шкале Ch длиной от 14 до 22 см. Стентирование проводилось по общепринятой методике. Период наблюдения за ребенком составлял в среднем 6-8 недель, после чего при повторной госпитализации мочеточниковый стент удалялся. Открытый оперативный доступ нами выполнен 28 детям с III стадией одностороннего гидронефроза. Проводилась пластика лоханочно-мочеточникового сегмента по методике Hynes-Anderson с дренированием коллекторной системы пораженной почки пиелостомическим дренажем. Резиновые выпускники удалялись из операционной раны на 3-4 сутки. На 10-12 сутки проводилась цветовая проба индигокармином, с последующим пережатием пиелостомического дренажа и удалением пиелостомы на следующий день.

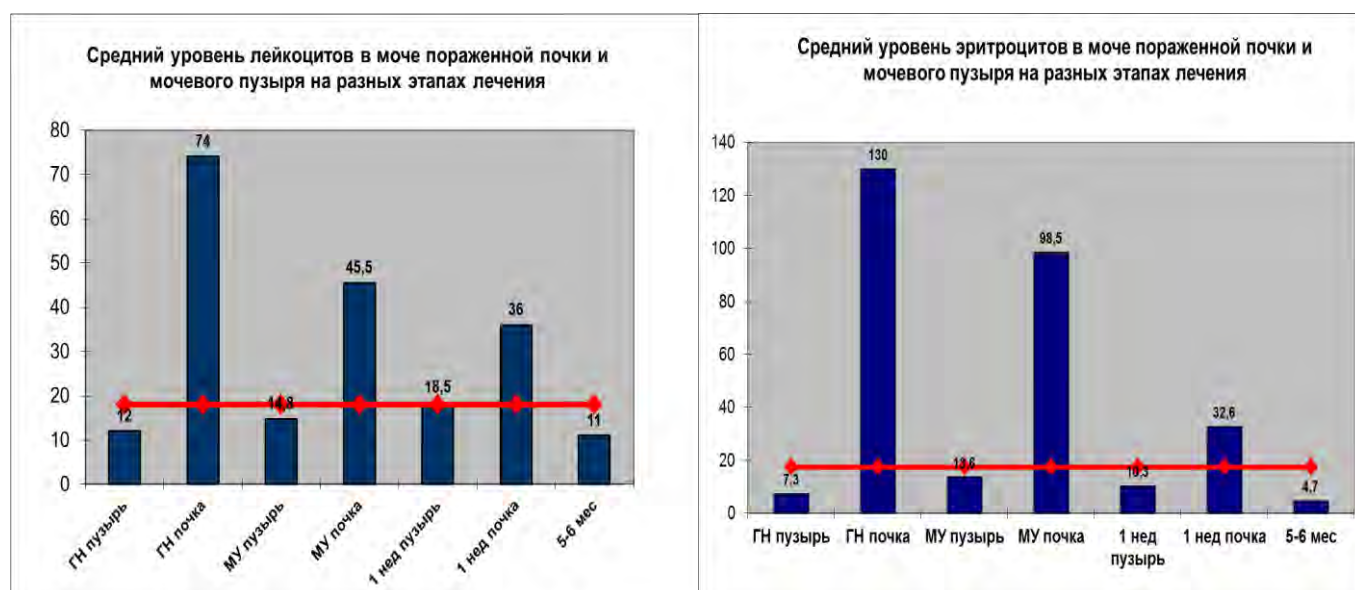
При лечении детей с ОМУ нами использовался открытый оперативный доступ. Операцией выбора у данной группы пациентов являлось формирование уретеронеоцистоанастомоза по методике Politano-Leadbetter. Интраоперационно мочеточники интубировались катетером Нелатона. Из мочевого пузыря моча отводилась посредством цистостомы у мальчиков (Ch 8-12) и катетера Фоллея у девочек. Резиновые выпускники из предпузырного и запузырного пространства удалялись на 3 сутки. Уретеральный катетер, как правило, удалялся на 8-9 сутки после операции.

В послеоперационный период всем детям проводилась антибактериальная терапия с учетом бактериологического анализа мочи.

Катамнестическое наблюдение: Через 6 месяцев после оперативной коррекции нарушенной уродинамики, с целью оценки результата лечения, дети госпитализировались для проведения контрольного лабораторного и рентгеноурологического обследования. Исследования проведены у 34 детей из обеих первичных групп с односторонней обструктивной уropатией, с молатеральным гидронефрозом - у 19 и у 15 детей с односторонним обструктивным мегауретером. При обследовании отмечено: сокращения собирательной системы, увеличение объема функционирующей паренхимы и микроциркуляции в пораженной почке. На 14-16 сутки после оперативного лечения в удовлетворительном состоянии и с врачебными рекомендациями дети выписывались домой.

Результаты лабораторных исследований

В моче из пораженной почки выявлено значительное повышение уровня форменных элементов мочи (рис.1): медиана числа лейкоцитов 74/мкл при одностороннем гидронефрозе и 45,5/мкл - при одностороннем мегауретере (верхняя граница нормы 20/мкл), медиана числа эритроцитов - 130/мкл и 98,5/мкл соответственно (верхняя граница нормы также 20/мкл).



А. лейкоциты

Б. эритроциты

Рисунок 1. Количественные показатели форменных элементов мочи в разные периоды наблюдения (медиана, кол-во клеток в 1мкл мочи)

При оценке динамики показателей мочи в раннем послеоперационном периоде к 7-10 суткам отмечено значительное снижение уровня лейкоцитов (медиана 36/мкл) и эритроцитов (медиана 32,6/мкл) (рис.1 А, Б). Такая положительная динамика, по-видимому, является суммарным эффектом антибактериальной терапии послеоперационного периода, и восстановления нормального оттока мочи. При катamnестическом наблюдении в сроки 5-6 мес. после операции отмечены нормализация уровня лейкоцитов и эритроцитов мочи. Перечисленное свидетельствует о значительном стихании или отсутствии инфекционно-воспалительного процесса в верхних мочевыводящих путях.

Биохимические исследования: проведен анализ изменений содержания белка, альбумина и креатинина мочи до оперативного лечения и в катamnестическом обследовании (табл. 5). Во всех пробах мочи из пораженной почки, как при ОМУ, так и при ГН отмечена протеинурия разной степени выраженности, средняя концентрация белка при его определении с помощью биохимического анализатора составила $0,74 \pm 0,13$ г/л при гидронефрозе и $0,3 \pm 0,09$ г/л при мегауретере, что достоверно выше, чем в моче из мочевого пузыря (табл. 5).

Таблица 5

Результаты исследования протеина, альбумина и креатинина мочи при катamnестическом наблюдении в сроки 5-6 месяцев после операции

Вид обструкции	Протеин г/л			Альбумин мг/дл			Креатинин моль/л		
	Мочевой пузырь	Почка	Катamnез мочевой пузырь	Мочевой пузырь	Почка	Катamnез мочевой пузырь	Мочевой пузырь	Почка	Катamnез моч. пузырь
ГН	$0,10^* \pm 0,02$	$0,74^* \pm 0,13$	$0,05 \pm 0,01$	$3,68^* \pm 0,93$	$43^* \pm 10,0$	$1,31 \pm 0,19$	$2,73^* \pm 0,67$	$1,31^* \pm 0,26$	$3,02 \pm 0,44$
ОМУ	$0,13^{**} \pm 0,04$	$0,3^{**} \pm 0,09$		$1,94^{**} \pm 0,65$	$20,1^{**} \pm 5,56$		$1,49^{**} \pm 0,27$	$1,81^{**} \pm 0,35$	

Примечание:

*- статистически значимые различия показателей анализа мочи из мочевого пузыря и почки с монолатеральным гидронефрозом ($p < 0,05$).

** - статистически значимые различия показателей анализа мочи из мочевого пузыря и почки с обструктивным мегауретером ($p < 0,05$).

В моче из пораженной почки отмечено также достоверно более высокое содержание альбумина. В анализах при катamnестическом наблюдении отмечено значительное снижение уровня белка и альбумина по сравнению с исходным уровнем (как у детей с ГН, так и с ОМУ).

Для оценки бактериурии в качестве скрининга использованы результаты автоматизированного анализа мочи с определением количества бактерий в 1 мкл мочи (рис. 2). Верхняя граница нормы для использованной технологии проточной урочитометрии составляет 40/мкл.

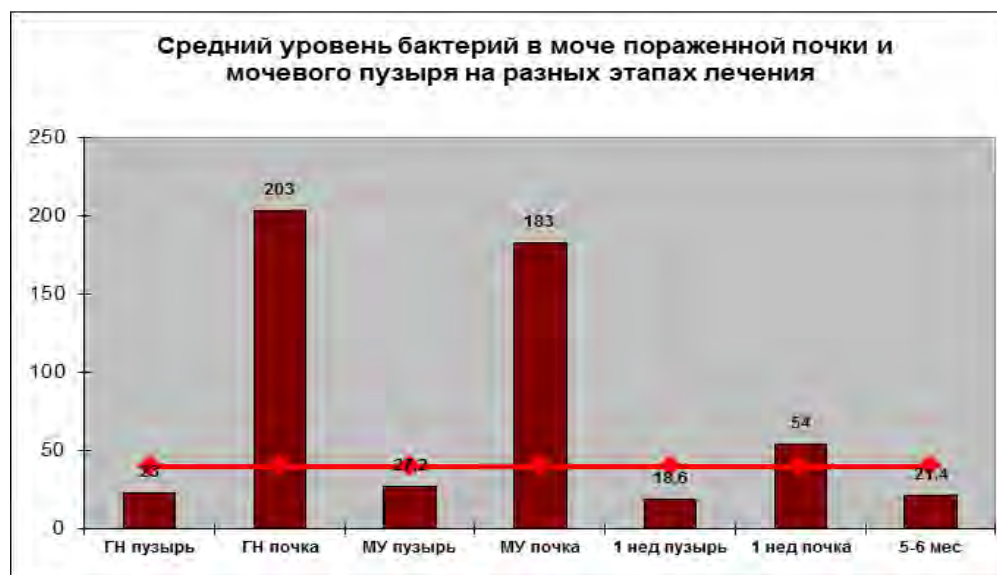


Рисунок 2. Результаты оценки бактериурии методом проточной урочитометрии (в 1 мкл, медиана)

Уровень бактерий в общей пробе мочи не превышал верхней границы нормы, в моче из пораженной почки показатели были достоверно выше: медиана числа бактерий составила 203/мкл при ГН и 183/мкл при ОМУ ($p < 0,05$). В раннем послеоперационном периоде отмечены нормальные показатели в моче из мочевого пузыря, значительное снижение количества бактерий в моче из почки (медиана 54/мкл), в катамнезе через 5-6 мес. после операции медиана оказалась в пределах нормы. Окончательная верификация инфицированности мочевых путей проводилась с помощью посева мочи, данные приведены на рисунке 3 (А) (Б).

При бактериологическом исследовании мочи из пораженной почки и мочевого пузыря обращает на себя внимание то, что в посевах мочи из мочевого пузыря у большинства больных как при ОМУ, так и при ГН высева бактерий практически не отмечалось; рост бактерий выявлен только у 4 детей с ОМУ и у 6 - с ГН. При исследовании мочи из пораженной почки у всех детей с ГН и ОМУ выявлен рост микрофлоры, характерной для инфекции мочевых путей.

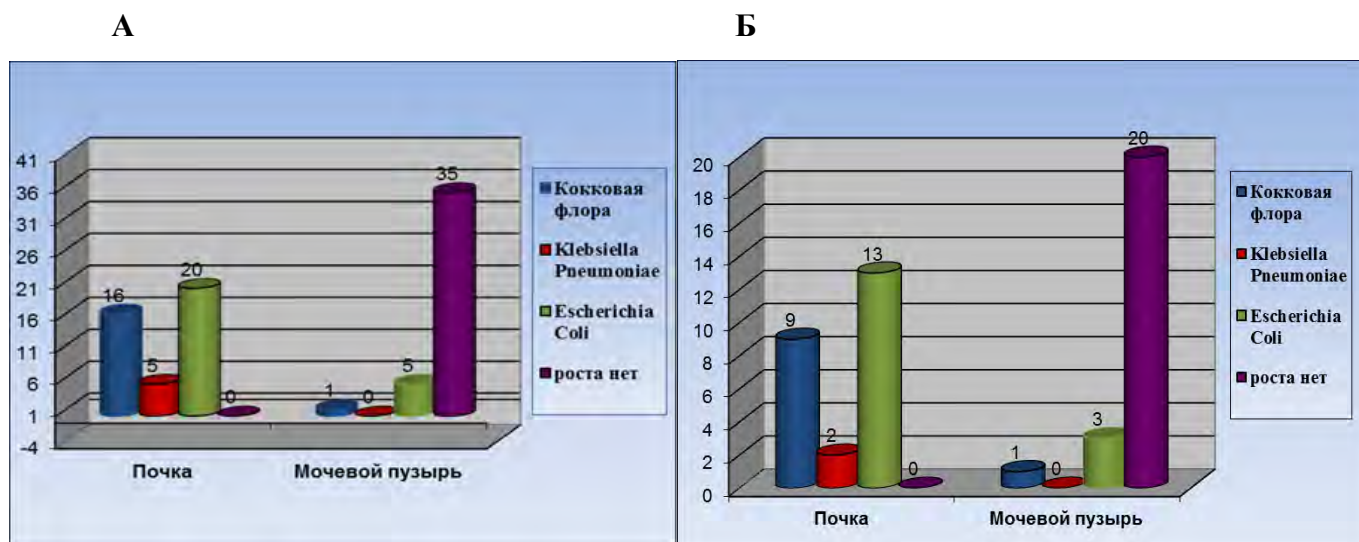


Рисунок 3. Результаты посева мочи у детей с гидронефрозом (А) и обструктивным мегауретером (Б)

При сравнении показателей форменных элементов мочи и бактериальных единиц из пораженной почки у детей со II и III стадией ГН (табл. 6), обращает на себя внимание то, что в моче из пораженной почки у детей со II и III стадией заболевания выявляются однотипные изменения.

Таблица 6

Сравнительная характеристика показателей общего клинического анализа мочи из мочевого пузыря и из лоханки у детей со II и III стадией одностороннего гидронефроза

Стадии одностороннего гидронефроза	Удельный вес г/л	Белок («сухая химия»)	Лейкоциты в 1 мкл	Эритроциты в 1 мкл	Бактерии в 1 мкл
II стадия Мочевой пузырь	1010* ±1,93	0	11* ±3	5,3* ±2,0	30,0* ±12,0
II стадия Почка	1007* ±1,67	1,09* ±0,42	43,6* ±13	107* ±32	241,2* ±78
III стадия Мочевой пузырь	1011** ±1,39	0	11,9** ±3,2	7,8** ±2,6	21,8** ±5,1
III стадия Почка	1006** ±0,97	1,2** ±0,27	86,0** ±16,5	118** ±23,2	277,1** ±71,0

Примечание:

* - статистически значимые различия показателей анализа мочи из мочевого пузыря и почки со II стадией одностороннего гидронефроза ($p < 0,05$).

** - статистически значимые различия показателей анализа мочи из мочевого пузыря и почки с III стадией одностороннего гидронефроза ($p < 0,05$).

Таким образом, проведенные исследования показали, что у детей с ГН и ОМУ моча из пораженной почки характеризовалась значительными изменениями – наличием протеинурии, высоким содержанием лейкоцитов, эритроцитов, бактерий (бактериурия подтверждена высокой частотой высева патологической флоры). Такие изменения свидетельствуют о текущем локальном воспалительном процессе в пораженной почке при ГН, а также в почке на стороне поражения при МУ. При этом признаки текущего воспалительного процесса выявлены в почке пациентов с

монолатеральным гидронефрозом независимо от стадии заболевания, то есть даже умеренные нарушения оттока мочи из лоханки приводили к выраженному воспалительному процессу.

В анализах при катамнестическом наблюдении отмечены: нормализация уровня лейкоцитов и эритроцитов мочи, отсутствие значимой бактериурии, значительное снижение уровня белка и альбумина по сравнению с исходным уровнем (как у детей ГН, так и с ОМУ). Перечисленное свидетельствует о значительном стихании или отсутствии инфекционно-воспалительного процесса в верхних мочевыводящих путях.

Исследование **маркеров воспаления, факторов склерозирования и медиаторов регенерации** также было проведено отдельно в моче из пораженной почки и мочевого пузыря. С учетом того, что биологическая роль факторов ангиогенеза и их участие в процессах нормального созревания тканей, процессах регенерации, воспаления и, возможно, склерозирования на данный момент мало изучены, в трактовке полученных данных мы исходили из клинических результатов обследования детей, которые подтвердили отсутствие воспалительных реакций, нормальные показатели роста и функционирования оперированных органов.

При определении уровня уромодулина у детей с ГН отмечен более высокий его уровень в общей пробе мочи и низкий уровень в моче из пораженной почки. При ОМУ значимых различий концентрации уромодулина не выявлено (рис. 4, А).

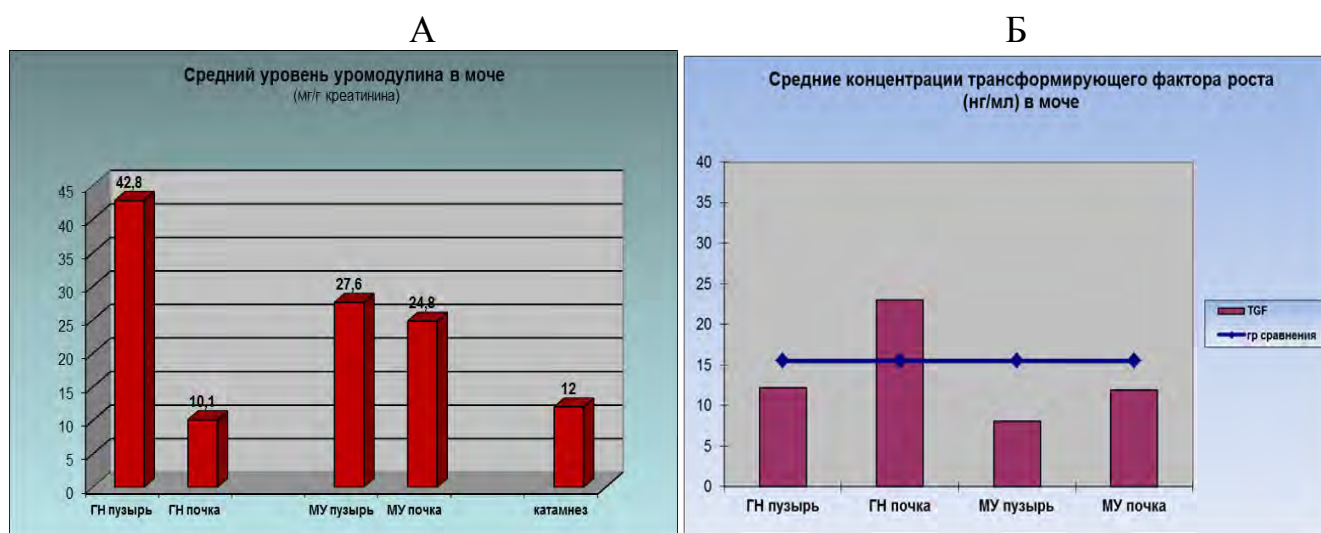


Рисунок 4. Результаты исследования уровня уромодулина (А) и трансформирующего фактора роста (Б)

Известно, что уромодулин секретируется эпителиальными клетками восходящего отдела петли Генле, обладает иммуномодулирующими свойствами, снижает функциональную активность моноцитов и макрофагов, блокирует адгезию микроорганизмов к уроэндотелию, за счет чего предотвращает развитие восходящей инфекции мочевых путей. Уменьшение содержания уромодулина в моче пораженной почки при ГН свидетельствует о снижении локальной противоинфекционной защиты.

При исследовании TGF- β 1 в моче из мочевого пузыря и пораженной почки у всех обследованных детей получены однородно низкие показатели в диапазоне 8,1-23 нг/мл при медиане показателей группы сравнения 15,5 нг/мл (рис. 4Б), то есть повышения уровня основного просклеротического медиатора в моче обследованных пациентов не отмечено.

При исследовании динамики уровня основных провоспалительных медиаторов IL-8 и G-CSF получены данные о значительно более высоком их уровне в моче из пораженной почки (табл. 7). Купирование воспалительного процесса в катамнезе сопровождалось достоверным снижением уровня IL-8 мочи и тенденцией к снижению уровня G-CSF.

Таблица 7

Изменения уровней IL-8 и G-CSF в моче из мочевого пузыря и почки при односторонних обструктивных уропатиях

Вид обструктивной уropатии	IL-8 (пг/мл)			G-CSF (пг/мл)		
	Мочевой пузырь	Почка	Катамнез моч. пузырь	Мочевой пузырь	Почка	Катамнез моч. пузырь
Монолатеральный гидронефроз	27,5* (5-22)	251,5* (16,5-451,6)	57*** (12,0-62)	7,4* (3,11-5,6)	17,2* (5,6-22,1)	14,2*** (5,7-21,0)
Обструктивный односторонний мегауретер	87,6** (4,34-12,37)	219** (25-470)		10,6** (2,5-0,48)	21,8** (5,7-24,4)	

Примечание:

*- статистически значимые различия показателей анализа мочи из мочевого пузыря и почки с монолатеральным гидронефрозом ($p < 0,05$).

** - статистически значимые различия показателей анализа мочи из мочевого пузыря и почки с обструктивным мегауретером ($p < 0,05$).

*** - статистически значимые различия показателей анализа мочи из мочевого пузыря при катамнестическом обследовании ($p < 0,05$).

Проведено сравнительное исследование медиаторов ангиогенеза, которое также выявило ряд различий. При определении уровня ангиопоэтина в моче из мочевого пузыря в большинстве проб детей с ГН и ОМУ отмечены следовые концентрации этого медиатора, в моче из почки уровень ангиопоэтина был следовым у 16 детей из

43 обследованных, значимые концентрации отмечены у 27 детей, что позволяет сделать вывод о более высоком уровне этого медиатора в моче из почки. В связи со значительным разбросом показателей вычисление средних показателей и медианы оказалось недостоверным, однако получены убедительные корреляционные связи (табл. 9). Ангиопоэтин является положительным регулятором развития и созревания кровеносных сосудов, необходим для регенерации эндотелиальных клеток, а также участвует в процессах воспаления, усиливая адгезию и миграцию нейтрофилов. Вероятно, его высокое содержание связано с текущим воспалительным процессом, однако с учетом важной роли ангиопоэтина в процессах роста эндотелия его высокий уровень может свидетельствовать в пользу сохранных регенераторных возможностей пораженной почки.

Результаты исследования уровня фоллистатина и фактора роста сосудистого эндотелия приведены в табл. 8.

Таблица 8

Сравнительная характеристика уровня фоллистатина и VEGF-A в моче из мочевого пузыря и почки при односторонних обструктивных уропатиях

Вид обструктивной уropатии	Фоллистатин пг/мл			VEGF-A пг/мл		
	Мочевой пузырь	Почка	Катамнез моч. пузырь	Мочевой пузырь	Почка	Катамнез моч. пузырь
Монолатеральный гидронефроз	84,2* (19,6-112)	214,5* (76,1 -247,7)	92,3*** (38,8-141,3)	228,9* (81,4-342,7)	295,5* (69,4-460,1)	183,7*** (105-187)
Обструктивный односторонний мегауретер	40,9** (18,3-75,8)	106,7** (38-164,7)		209,2** (89-236)	228,6** (105-245)	

Примечание:

*- статистически значимые различия показателей анализа мочи из мочевого пузыря и почки с монолатеральным гидронефрозом ($p < 0,05$).

** - статистически значимые различия показателей анализа мочи из мочевого пузыря и почки с обструктивным мегауретером ($p < 0,05$).

***- статистически значимые различия показателей анализа мочи из мочевого пузыря при катамнестическом обследовании ($p < 0,05$).

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF-A) экспрессируется клубочковыми подоцитами и клетками почечных канальцев, в почечной ткани выполняет различные функции, включая неоангиогенез, ремоделирование сосудистой и почечной ткани. У обследованных нами детей выявлена стабильная и достаточно высокая концентрация его в моче пораженной почки и мочевого пузыря у детей с ГН и ОМУ, что, по нашему мнению, может быть расценено в пользу его протективного действия и способности эндотелия к регенерации. При исследовании фоллистатина уровень его в моче, секретлируемой пораженной почкой, как при ГН, так и при ОМУ,

был достоверно выше, чем в мочевом пузыре. Так как у фоллистатина доказано нефропротективное действие, можно считать, что повышение его уровня свидетельствует о сохранных регенераторных способностях паренхимы почки, вовлеченной в патологический процесс.

Умеренное снижение уровня фоллистатина, сохранение достаточно высокого уровня фактора роста сосудистого эндотелия при катamnестическом наблюдении, с нашей точки зрения, свидетельствует в пользу регенераторных возможностей почечной ткани обследованных нами детей. С учетом комплексной оценки клинических данных, результатов инструментального обследования и определения медиаторов ангиогенеза и факторов склерозирования, данных за развитие нефросклероза у обследованных пациентов не выявлено.

При проведении статистической обработки данных выявлен ряд корреляций (табл. 9), подтверждающих наличие локального воспаления в пораженной почке, а также свидетельствующих о взаимосвязи процессов воспаления и регенерации у обследованных больных. Наиболее значимые из них являются следующие:

Таблица 9

Корреляция между провоспалительными цитокинами, факторами тканевой регенерации и клеточным составом мочи пораженной почки

Показатель	Показатель	Коэффициент корреляции	
Лейкоциты в моче из почки	G-CSF	0,84	p <0,05
Лейкоциты в моче из почки	IL-8	0,46	p <0,05
Лейкоциты в моче из почки	VEGF	0,63	p <0,05
IL-8	Фоллистатин	0,63	p <0,05
IL-8	VEFG	0,47	p <0,05
Ангиопоэтин	G-CSF	0,62	p <0,05
Ангиопоэтин	IL-8	0,57	p <0,05

Выводы:

1. При одностороннем гидронефрозе и одностороннем мегауретере, нарушение уродинамики сопровождается локальным воспалением мочевых путей на стороне поражения, которое подтверждается высоким уровнем белка, лейкоцитов, эритроцитов и бактерий в моче на стороне обструкции: средняя концентрация белка составила $0,74 \pm 0,13$ г/л при гидронефрозе и $0,3 \pm 0,09$ г/л при мегауретере; медиана числа лейкоцитов оказалась 74/мкл при одностороннем гидронефрозе и 45, 5/мкл

при одностороннем мегауретере (верхняя граница нормы 20/мкл), медиана числа эритроцитов - 130/мкл и 98,5/мкл соответственно (верхняя граница нормы 20/мкл); медиана числа бактерий - 203/мкл при одностороннем гидронефрозе и 183/мкл при одностороннем мегауретере (верхняя граница нормы 40 в 1 мкл). Установлено, что локальное воспаление не может быть выявлено с помощью общего анализа мочи, собранной из мочевого пузыря.

2. Нарушение уродинамики и локальное воспаление при моностеральной обструкции сопровождается повышенной продукцией провоспалительных цитокинов IL-8 и G-CSF (уровень IL-8 в моче из пораженной почки при одностороннем гидронефрозе в 9 раз выше, при одностороннем мегауретере в 2,5 раза выше, чем в пробах общей мочи; уровень G-CSF в моче из пораженной почки в 2-2,3 раза выше как при гидронефрозе, так и при мегауретере), факторов тканевой регенерации и ангиогенеза – фоллистатина и ангиопоэтина; а также уменьшением экскреции уромодулина, которое способствует поддержанию бактериурии.

3. Оперативная коррекция уродинамики в сочетании с антибактериальной терапией при моностеральном гидронефрозе и обструктивном мегауретере приводит к купированию воспалительного процесса уже в ранние сроки после операции: в течение 7-10 дней отмечается значимое снижение уровня лейкоцитов (медиана 36/мкл), эритроцитов (медиана 32,6/мкл) и бактерий (медиана 54/мкл). У большинства больных через 5-6 месяцев после оперативного лечения достигается купирование воспалительного процесса.

4. Уменьшение активности воспалительного процесса сопровождается поэтапным снижением и последующей нормализацией количества лейкоцитов, эритроцитов, бактерий в моче, а также снижением концентрации провоспалительных цитокинов IL-8 и G-CSF; наиболее значимая динамика отмечена для IL-8, медиана концентрации которого составила через 5-6 месяцев после операции 57 пг/мл при исходных показателях 251,5 пг/мл при одностороннем гидронефрозе и 219 пг/мл при одностороннем мегауретере.

5. Почка на стороне поражения сохраняет способность к регенерации ткани, о чем свидетельствует повышение уровня фоллистатина в моче, полученной из лоханки этой почки (медиана концентрации фоллистатина при одностороннем гидронефрозе

составила 241,5 пг/мл, при одностороннем мегауретере - 106,7 пг/мл, что в 2,5-2,6 раза превышает уровень в пробе общей мочи при этих заболеваниях). Сохранные регенераторные возможности подтверждаются также стабильным уровнем фактора роста сосудистого эндотелия VEGF-A, что может являться прогностически благоприятным признаком регенераторных возможностей паренхимы на стороне поражения.

6. При односторонней обструктивной уропатии (одностороннем гидронефрозе, одностороннем обструктивном мегауретере) у детей в возрасте до 10 лет, несмотря на нарушение уродинамики и локальное воспаление, не повышается ренальный синтез просклеротического фактора TGF- β , что позволяет считать риск склерозирования паренхимы пораженной почки минимальным.

7. При выявлении молатерального гидронефроза или обструктивного мегауретера первым этапом необходимо проведение курса антибактериальной и противовоспалительной терапии в течение месяца, а при отсутствии положительной динамики - решение вопроса об оперативном лечении.

Практические рекомендации:

У детей с молатеральной обструкцией мочевых путей локальное воспаление в пораженной почке может проявляться симптомами инфекции неясного происхождения при нормальных анализах мочи, полученной из мочевого пузыря, что необходимо учитывать при подготовке больных к оперативному лечению.

С целью улучшения результатов лечения у детей с молатеральной обструкцией проведение антибактериальной терапии необходимо начинать в предоперационном периоде.

В случае неэффективности антибактериальной терапии при гидронефрозе II стадии, первым этапом оперативного лечения может быть бужирование лоханочно-мочеточникового сегмента с последующим стентированием, с обязательной оценкой эффективности в течение 4-6 месяцев, а при отсутствии положительной динамики - решать вопрос о проведении резекционной пиелопластики.

Публикации по теме диссертации

1. **Русаков А.А. Клеточный состав мочи у детей с молатеральным гидронефрозом/ Русаков А.А., Шарков С.М., Яцык С.П., Буркин А.Г. // Детская хирургия.- 2014.-№ 4.- С.20-22.**
2. **Русаков А.А. Оценка компенсаторных возможностей почек на основе радионуклидных исследований/ Русаков А.А., Видюков В.И., Бессолова О.В., Герасимова Н.П., Комарова Н.Л.// Урология.- 2014.- №2.- С.40-43.**
3. **Русаков А.А. Сравнительная оценка методов хирургической коррекции пузырно-мочеточникового рефлюкса у детей/ Русаков А.А., Яцык С.П., Шарков С.М., Буркин А.Г.// Вопросы современной педиатрии. – 2014. - №2.- С. 129-131.**
4. **Русаков А.А. Эндоскопическое лечение пузырно-мочеточникового рефлюкса у детей/ Русаков А.А., Яцык С.П., Шарков С.М., Буркин А.Г.// Урология.- 2014. - №5.- С. 102-106.**
5. **Русаков А.А. Нарушение структуры лоханочно-мочеточникового сегмента при его обструкции/ Русаков А.А., Шарков С.М., Яцык С.П., Буркин А.Г. // Урология. – 2015. - № 2.- С. 82-87.**
6. **Русаков А.А. Уровень факторов ангиогенеза в моче при одностороннем гидронефрозе у детей раннего возраста/ Русаков А.А., Семикина Е.Л., Шарков С.М., Филянская Е.Г., Акулова С.С. // Медицинская иммунология.- 2015.-№ 17.-С. 210-211.**
7. **Русаков А.А. Радионуклидная оценка транспортной функции мочеточника при патологии пузырно-мочеточникового сегмента у детей и подростков/ Русаков А.А., Буркин А.Г., Яцык С.П., Шарков С.М., Фомин Д.К.// Вопросы современной педиатрии. – 2015. - №3. -С. 57-61.**