

Клинико-иммунологическая характеристика клинической ремиссии у детей с хроническим пиелонефритом после хирургической коррекции обструктивных уропатий

Пекарева Н.А., Лоскутова С.А., Трунов А.Н.

Clinical-immunological characteristic of clinical remission in children with chronic pyelonephritis after surgical correction of obstructive uropathies

Pekareva N.A., Loskutova S.A., Trunov A.N.

Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск

© Пекарева Н.А., Лоскутова С.А., Трунов А.Н.

Несмотря на достижения современной педиатрии, постоянное совершенствование методов диагностики, оперативного и консервативного лечения и профилактики патологического процесса, можно констатировать отсутствие кардинального перелома в лечении хронического пиелонефрита у детей [1, 2, 4, 9].

В исследованиях, посвященных изучению патогенеза острого и обострения хронического пиелонефрита детей, было выявлено изменение многих иммунологических маркеров воспаления. Их динамика на фоне антибактериальной терапии позволяет сделать заключение о возможности использования полученных данных как точных критериев установления диагноза и оценки эффективности лечения. Однако работ, посвященных изучению нарушений иммунного реагирования и выраженности воспалительных процессов в патогенезе хронического пиелонефрита в стадии клинической ремиссии у детей, практически не проводилось [3, 5–8].

В связи с вышеизложенным, целью проведенного исследования явилось изучение клинико-лабораторных особенностей течения патологического процесса у детей с хроническим пиелонефритом в стадии клинической ремиссии после оперативной коррекции обструктивной уропатии.

Под наблюдением находилось 233 ребенка с вторичным хроническим пиелонефритом в возрасте от 1 года до 15 лет, из них мальчиков 65 (27,8%), девочек — 168 (72,2%), т.е. в 2,5 раза больше, что соответствует данным современной литературы (Папаян А.В., 2001). Давность катamnестического наблюдения составляла от 1 года до 12 лет. У 74 (31,7%) детей пиелонефрит протекал на фоне стриктуры лоханочно-мочеточникового соустья, у 159 (68,3%) — на фоне пузырно-мочеточникового, пузырно-лоханочного рефлюкса 1–3-й степени. Установлено, что у 35 (14,1%) детей обструктивные заболевания мочевой системы развивались на фоне аномалий почек: гипоплазия — 11 (4,7%), аплазия контрлатеральной почки — 8 (3,4%), нефроптоз — 6 (2,5%), дистопия — 6 (2,5%), незавершенный поворот — 4 (1,7%).

У 35 (14,1%) пациентов диагностированы аномалии мочевыводящих путей: удвоение лоханки и мочеточника — 17 (7,3%), эктопия устья мочеточника — 5 (2,1%), мегауретер — 13 (5,5%). Наряду с этим у 6 (2,5%) обследованных выявлено сочетание обструкции мочевыводящих путей: с мочекаменной болезнью — у 4 (1,7%), с кистой почки — у 2 (0,85%). Гидронефротическая трансформация 1–3-й степени выявлена у 189 (81%) детей. При этом слева — у 95 (50,2%), справа —

у 61 (31,7%), с обеих сторон — у 33 (17,4%). Внутритрубно гидронефротическая трансформация выявлена у 13 (5,5%) пациентов.

В число обязательных биохимических тестов входило определение в сыворотке крови содержания креатинина, мочевины, СРБ, ЦИК. Тубулярные функции почек оценивались по уровню рН мочи, удельному весу, титруемым кислотам, секреции аммония. В условиях стационара урологическое обследование в 100% случаев начинали с проведения УЗИ. Особое внимание обращали на размеры почек, состояние ЧЛС, толщину паренхимы, степень подвижности данных органов. При выявлении гидронефротической трансформации тщательно визуализировались лоханочно-мочеточниковое соустье (ЛМС), верхняя и нижняя треть мочеточника. Информативность УЗИ составила всего 63,5% и не зависела от степени гидронефротической трансформации и рефлюкса.

В этой связи единственно надежным способом диагностики ПМР явилась цистография, выполненная у 100% больных и позволившая уточнить не только степень рефлюкса, но и сторону поражения.

Для уточнения уровня обструкции (лоханочно-мочеточниковое либо пузырно-мочеточниковое соустье), уточнения степени гидронефротической трансформации почек у детей с рефлюксом дополнительно выполнялась внутривенная экскреторная урография (независимо от возраста ребенка) с отсроченными урограммами (на 60 и 120 мин). В ходе обследования обструкцию лоханочно-мочеточникового соустья слева выявили у 35 детей, справа — у 24 и с обеих сторон — у 15. В 79 случаях документирована гидронефротическая трансформация почек, одно- и двусторонняя при пузырно-лоханочных рефлюксах. Снижение функции почки на стороне поражения отмечено у 16 (11%) больных, что подтверждено данными ренографии.

Показанием к операции при стриктурах ЛМС служила гидронефротическая трансформация 2—3-й степени, сопровождающаяся гипотрофией функционирующей паренхимы. У 6 больных возраст колебался от 1 до 3 лет, еще у 14 — от

3 до 6 лет и у 8 — от 6 до 10 лет. Подавляющее большинство, а именно 36 детей, были оперированы в возрасте от 10 до 14 лет. Таким образом, средний возраст пациентов составил $(9,3 \pm 0,9)$ года. Все операции были выполнены по Андерсену—Хайнсу в модификации Кучера (резекция ЛМС с наложением пиелоуретерального анастомоза). При интраоперационной ревизии лоханочно-мочеточникового сегмента были выявлены следующие причины гидронефроза: стеноз ЛМС — 41 (55,4%) случай, аберрантные сосуды — 13 (17,5%), высокое отхождение мочеточника — 14 (18,9%), стеноз мочеточника в верхней трети — 6 (8,1%). Установлено, что атрофия паренхимы гидронефротической почки связана не только с причиной, вызвавшей обструкцию, но и зависит от глубины морфологических изменений в стенке ЛМС.

Важным критерием эффективности хирургического лечения гидронефроза является восстановление проходимости лоханочно-мочеточникового соустья. В этой связи об успешности проведенной операции свидетельствовали следующие факты: прекращение рецидивов пиелонефрита, отсутствие признаков лоханочно-мочеточникового стеноза, уменьшение степени гидронефроза по данным УЗИ и экскреторной урографии. Общая продолжительность наблюдения больных, подвергшихся операции, составляла от 2 до 10 лет. По результатам проведенной хирургической коррекции, которые оценивались ретроспективно 1 раз в год, были выделены две группы пациентов.

В первую вошли 58 (79,5%) детей, у которых уродинамика полностью восстановилась. До операции у 48 из них гидронефроз соответствовал 3-й степени, у 10 — 2-й степени. В ближайшие 2 года после операции отмечалось уменьшение степени гидронефроза, рост почечной паренхимы, улучшение либо нормализация функции почки, стойкая нормализация анализов мочи. Наряду с указанными позитивными сдвигами имело место обратное развитие викарной гипертрофии контрлатеральной почки при одностороннем гидронефрозе, что, по-видимому, свидетельствует об улучшении морфофункционального состояния оперированной почки. По

данным исследования, рост паренхимы при сохранении деформации полостной системы начинается через 1–2 года ($(1,6 \pm 0,4)$ года), причем особенно интенсивно у детей, оперированных в возрасте до 6 лет. Однако, по результатам экскреторной урографии, выраженность деформации полостной системы по сравнению с исходной хотя и уменьшилась, но не ликвидировалась полностью. Так, выраженность гидронефроза уменьшилась с 3-й до 2-й степени у 28 (48,3%) из 58 пациентов, с 3-й до 1-й степени — у 21 (34,5%) и со 2-й до 1-й степени — у 10 (17,2%).

Вторую группу сформировали 15 (20,5%) детей с гидронефрозом 3-й степени, у которых уродинамика после операции полностью не восстановилась, что подтверждено данными УЗИ и экскреторной урографии. Вместе с тем пиелонефрит у них рецидивировал реже — в среднем в 1,4 раза ($p < 0,05$), а лечение его обострений было успешным у всех больных. Улучшилось также качество жизни пациентов, что в целом свидетельствовало о целесообразности проведенной операции. В дополнение следует подчеркнуть, что к моменту осуществления хирургической коррекции возраст 10 пациентов достиг 12–14 лет, поскольку врожденная аномалия мочевой системы была распознана поздно.

Определение уровня содержания циркулирующих иммунных комплексов

в сыворотке крови

Определение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) проводили методом жидкостной преципитации в 4%-м полиэтиленгликоле-6000 на боратном буфере с концентрацией 0,01 моль, рН = 8,4. В рядом находящиеся лунки параллельных стрипов 96-луночных плоскодонных планшетов для иммунологических реакций вносили по 0,3 мл боратного буфера с концентрацией 0,01 моль, рН = 8,4 (контроль) и 0,3 мл 4%-го разведения ПЭГ-6000 на боратном буфере с концентрацией 0,01 моль (рН = 8,4) (опыт). В контрольную и опытные лунки добавляли по 0,005 мл исследуемой сыворотки крови челове-

ка. Инкубировали 1 ч при комнатной температуре.

Величину оптической плотности определяли при длине волны 450 нм на вертикальном спектрофотометре Multiscan MMC-340. Количество циркулирующих иммунных комплексов выражали в условных единицах: величина оптической плотности *1 000 (усл. ед.).

Определение аутоантител к антигенам нативной и денатурированной ДНК в сыворотке крови

Аутоантитела к антигенам нативной и денатурированной ДНК определяли с помощью тест-системы «ДНК-ТЕСТ» производства ПМЦ «СибНИРкомплект» по инструкции производителя. Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Multiscan МСС 340» при длине волны 492 нм. Результаты выражали в условных единицах.

Уровень аутоантител к нативной и денатурированной ДНК определялся в цифровом выражении, которое равнялось: оптическая плотность исследуемого образца, деленная на критическую оптическую плотность, — оптическая плотность отрицательного контроля X_2 .

Определение концентраций IgA в сыворотке крови и sIgA в моче

Исследования выполняли на тест-системах производства ЗАО «Вектор-Бест» (п. Кольцово) по инструкции производителя.

Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Multiscan МСС 340» при длине волны 450 нм.

Для определения концентрации иммуноглобулинов в анализируемых образцах строился калибровочный график по средним значениям оптической плотности каждого стандартного раствора. Результаты выражали в г/л и мг/мл.

Определение концентрации лактоферрина в сыворотке крови и моче

Исследования выполняли на тест-системах производства ЗАО «Вектор-Бест» по инструкции производителя.

Для определения концентрации лактоферрина в анализируемых пробах строился калибровочный график по средним значениям оптической плотности каждого стандартного раствора. При постановке реакции слезная жидкость разводится в 200 раз, вследствие этого для получения конечного результата в нг/мл необходимо умножить результат, соответствующий оптической плотности, на 200.

Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Multiscan MCC 340» при длине волны 450 нм. Результаты выражали в нг/мл.

Определение концентрации интерлейкинов в сыворотке крови и моче

Определение ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и ИФН- γ в сыворотке крови и моче выполняли на коммерческих тест-системах производства ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург) по инструкции производителя.

Результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Multiscan MCC 340» при длине волны 450 нм.

Для определения концентрации интерлейкинов в анализируемых образцах строился калибровочный график по средним значениям оптической плотности каждого стандартного раствора. Результаты выражали в пг/мл.

Статистическая обработка полученных данных

Вычисляли среднее арифметическое значение M и ошибку среднего арифметического значения m . В работе использовали методы непараметрической статистики. Значимость различий вариационных рядов в связанных попарно выборках оценивали с помощью U -критерия Вилкоксона–Манна–Уитни, корреляцию показателей вычисляли по методу Спирмена. Анализ данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statgrafics. Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем достоверной вероятности 95% ($p < 0,05$).

В результате проведенных исследований были получены данные, отражающие содержание тестируемых цитокинов в сыворотке крови и моче детей с хроническим пиелонефритом в стадии ремиссии в разные сроки после оперативной коррекции нарушений уродинамики, которые представлены в табл. 1.

Средние концентрации основного провоспалительного цитокина ИЛ-1 β в сыворотке крови и моче обследованных детей достоверно не отличались от средних нормативных значений изучаемого цитокина в обеих биологических жидкостях.

Среднее значение концентраций провоспалительного цитокина ИЛ-6, способного блокировать синтез ИЛ-1 β и активизировать процессы антителогенеза во второй фазе развития иммунного ответа, в сыворотке крови обследованных детей достоверно превышало среднее значение нормы ($p < 0,05$).

Средняя концентрация провоспалительного цитокина ИЛ-8 в моче детей с хроническим пиелонефритом в стадии ремиссии в разные сроки после оперативной коррекции нарушений уродинамики превышала среднее значение нормы ($p < 0,05$), а в сыворотке крови обследованных детей его содержание не превышало значений показателя в норме.

При определении концентрации ИФН- γ – важнейшего эндогенного иммуномодулятора, способного усиливать выраженность рецепторов главного комплекса гистосовместимости и способствовать развитию специфической фазы иммунного ответа, не выявлено повышения средней его концентрации в сыворотке крови и моче по сравнению с нормой, что дает основание считать, что у обследованных пациентов отсутствует развитие специфического ответа.

Определение концентрации ИЛ-4, цитокина, участвующего в развитии гуморального иммунного ответа, имеющего высокую значимость при инфекционно-воспалительных заболеваниях бактериальной этиологии, к которым относится изучаемый патологический процесс, в сыворотке крови и моче обследованных пациентов позволило выявить достоверное повышение

среднего его содержания в обеих биологических жидкостях ($p < 0,05$).

Следующим этапом исследования было определение уровней ААТ к АГ нДНК и дДНК, являющихся маркерами воспалительно-деструк-

тивных процессов и аутоиммунных реакций, ЦИК, IgA в сыворотке крови и секреторного IgA в моче. Полученные данные представлены в табл. 2.

Таблица 1

Концентрации цитокинов (пг/мл) в сыворотке крови и моче детей с клинической ремиссией хронического пиелонефрита в сравнении с нормой, $M \pm m$

Группа	Исследованные цитокины				
	ИЛ-1 β	ИЛ-6	ИЛ-8	ИЛ-4	ИФН- γ
Кровь					
Норма	43,2 \pm 4,9	28,1 \pm 4,8	17,3 \pm 3,4	35,1 \pm 4,3	30,7 \pm 5,1
Обследованная группа	49,6 \pm 4,5	61,4 \pm 5,6*	19,3 \pm 3,3	79,1 \pm 8,9*	23,3 \pm 3,4
Моча					
Норма	11,2 \pm 2,5	-/-	-/-	9,4 \pm 3,1	-/-
Обследованная группа	16,0 \pm 2,9	-/-	10,1 \pm 1,6*	20,8 \pm 2,1*	-/-

Примечание. -/- — значение находилось в пределах величин, характеризующих ошибку метода и чувствительность тест-системы.

* Достоверно отличается от среднего значения нормы ($p < 0,05$).

Таблица 2

Уровни содержания ААТ к АГ нативной, денатурированной ДНК, IgA, ЦИК в сыворотке крови и sIgA в моче пациентов с клинической ремиссией хронического пиелонефрита в сравнении с нормой, $M \pm m$

Группа	ААТ к АГ нДНК, усл. ед.	ААТ к АГ дДНК, усл. ед.	ЦИК, усл. ед.	IgA, Г/Л	sIgA, МГ/Л
Норма	0,88 \pm 0,14	0,96 \pm 0,16	54,2 \pm 4,8	1,05 \pm 0,09	1,31 \pm 0,23
Обследованная группа	1,42 \pm 0,11*	2,23 \pm 0,16*	106,0 \pm 8,8*	1,54 \pm 0,12*	1,69 \pm 0,18

* Достоверно отличается от среднего нормативного значения ($p < 0,05$).

Среднее значение уровней ААТ к АГ нДНК в сыворотке крови детей с хроническим пиелонефритом в стадии ремиссии в разные сроки после оперативной коррекции нарушений уродинамики было достоверно выше среднего нормативного показателя ($p < 0,05$).

Аналогичные изменения были получены при определении уровней ААТ к АГ дДНК в обследованной группе, полученное среднее значение изучаемого показателя было достоверно выше нормы ($p < 0,05$).

При оценке содержания интегрального показателя активации гуморального звена иммунной системы — ЦИК было показано, что у детей с хроническим пиелонефритом в стадии ремиссии после оперативной коррекции нарушений уродинамики характерно его нарастание ($p < 0,05$).

Уровни содержания IgA в сыворотке крови пациентов были выше значений нормы ($p < 0,05$).

Определение концентраций секреторного иммуноглобулина А в моче обследованных детей позволило зафиксировать тенденцию к повышению содержания изучаемого показателя.

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что, несмотря на отсутствие выраженных клинических проявлений хронического воспалительного процесса и изменений общеклинических анализов, у обследованных детей тестируется скрытая активация очага хронического воспаления. Полученные данные позволяют сделать заключение о существовании в организме пациентов постоянной антигенной стимуляции, которая при срыве адаптационных механизмов может привести к развитию иммунной недостаточности и является базой для возникновения периодических обострений патологического процесса.

Литература

1. Гриценко В.А., Бухарин О.В., Вялкова А.А. // Рос.

Пекарева Н.А., Лоскутова С.А., Трунов А.Н. Клинико-иммунологическая характеристика клинической ремиссии...

- вестн. перинатологии и педиатрии. 1999. № 6. С. 34—40.
2. **Игнатова М.С.** // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. 2000. Т. 45. № 1. С. 24—29.
 3. **Паунова С.С., Кучеренко А.Г., Смирнов И.Е. и др.** // Нефрология и диализ. 2003. Т. 5. № 3. С. 207—211.
 4. **Румянцев А.Ш., Гончарова Н.С.** // Нефрология. 2000. № 3. С. 40—52.
 5. **Gurgoze M.K., Akarsu S., Yilmaz E. et al.** // *Pediatr. Nephrol.* 2005. V. 20. № 10. P. 1445—1448.
 6. **Kassir K., Vargas-Shiraishi O., Zaldivar F., Berman M.** // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2001. № 6. P. 1060—1063.
 7. **Krzemien G., Roszkowska-Blaim M., Kostro I. et al.** // *Med. Sci. Monit.* 2004. V. 10. № 11. P. 593—597.
 8. **Rytłewska M., Liberek A., Sikorska-Wisniewska G. et al.** // *Med. Wieku. Rozwoj.* 2005. V. 9. № 4. P. 727—739.
 9. **Williams D.H., Schaeffer A.J.** // *Minerva Urol. Nefrol.* 2004. V. 56. № 1. P. 15—31.