

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК: 616.61-036.12-091.8-07(045)

**МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ТУБУЛОИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ
ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С МОЧЕКАМЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ***Маслякова Г.Н.¹, Россоловский А.Н.¹, Напшева А.М.¹, Захарова Н.Б.²*¹НИИ фундаментальной и клинической уронефрологии
ГБОУ ВПО Саратовского ГМУ им. В.И.Разумовского Минздрава России, г.Саратов²Центральная научно-исследовательская лаборатория
ГБОУ ВПО Саратовского ГМУ им. В.И.Разумовского Минздрава России, г.Саратов

Адрес: 410012, г.Саратов, ул. Большая Казачья, 112, тел. (845)669751

Эл.почта: gmaslyakova@yandex.ru, rossol@list.ru, a.napsheva@yandex.ru, lipidgormon@mail.ru

Целью настоящей работы явилась оценка тубулоинтерстициальных изменений паренхимы почек у больных нефролитиазом в различные сроки хирургического лечения с использованием медиаторов нефрофиброза и ангиогенеза, а также интраоперационной нефробиопсии. Проанализированы результаты операций у 65 больных мочекаменной болезнью. Определяли содержание молекулярных медиаторов нефрофиброза в сыворотке крови и моче. Показано, что наиболее информативными маркерами тубулоинтерстициального фиброза являются ИЛ12, VEGF в сыворотке крови и экскретирующиеся с мочой $\beta 2$ МГ, MCP 1 и NO. Установлено, у больных с двухсторонним нефролитиазом на фоне имеющихся выраженных тубулоинтерстициальных повреждений, сохраняющиеся в послеоперационном периоде высокие уровни показателей нефрофиброза могут свидетельствовать о необратимости изменений, ведущих к прогрессированию хронической болезни почек.

Ключевые слова: мочекаменная болезнь, медиаторы нефрофиброза, тубулоинтерстициальные повреждения

**ASSESSMENT TUBULOINTERSTITIAL CHANGES IN THE RENAL PARENCHYMA
IN THE SURGICAL TREATMENT OF NEPHROLITHIASIS***Maslyakova G.N.¹, Rossolovsky A.N.¹, Napsheva A.M.¹, Zakharova N.B.²*¹Research Institute of Fundamental and Clinical Uronephrology
Saratov State Medical University named after V.I.Razumovsky, Saratov²Head of Scientific Investigative Laboratory
Saratov State Medical University named after V.I.Razumovsky, Saratov

The aim of this study was to evaluate changes in tubulointerstitial renal parenchyma in patients with nephrolithiasis at various stages of surgical treatment using mediators nephrofibrosis and angiogenesis and the results of intraoperative biopsy of kidney. Results of surgical treatment of 65 patients with nephrolithiasis were studied. In serum and urine of patients content determined molecular mediators that characterize nephrosclerosis. It is shown that the most informative markers of tubulointerstitial fibrosis are IL12, VEGF in serum and excreted in the urine $\beta 2$ MG, MCP 1 and NO. High level markers nephrosclerosis, conserved in the postoperative period in patients with bilateral nephrolithiasison the background existing tubulointerstitial damage indicates irreversibility nephrosclerosis and further progression of chronic kidney disease.

Key words: nephrolithiasis, mediators of nephrosclerosis, tubulointerstitial damages

ВВЕДЕНИЕ

Мочекаменная болезнь (МКБ) является одним из самых распространенных урологических заболеваний, поражая в развитых странах от 0,5 до 5,3% населения [1]. В России на долю МКБ приходится до 38,2% всех больных урологических стационаров.

МКБ чаще всего сопровождается обструкцией верхних мочевых путей различной степени выраженности, что само по себе, а также возникающие в каждом случае оперативного лечения повреждения, приводят к ишемии почечной ткани [2], что по современным воззрениям лежит в основе прогрессирования хронической болезни почек (ХБП), запускающего процессы фиброобразования почечной ткани [3]. Наиболее уязвимыми при ишемии почечной ткани являются клетки проксимального отдела канальцевого аппарата. Возникающая протеинурия способствует продукции данными клетками молекул воспаления, вызывающих патологический процесс в интерстиции. Как результат, в последнее десятилетие получено подтверждение того, что тубулоинтерстициальный фиброз является патоморфологической основой прогрессирования почечной недостаточности у больных нефролитиазом [3].

Ранее в экспериментальных и клинических исследованиях был определен спектр наиболее значимых медиаторов, участвующих в реализации процессов нефрофиброза: хемокины, факторы рос-

та (MCP-1, трансформирующий фактор роста (TGF β), ряд эндотелиальных факторов [4, 5, 6]. В то же время исследований, посвященных динамическому изучению профиброгенных медиаторов в процессе хирургического лечения больных нефролитиазом и его последствий практически не представлено.

Целью настоящей работы явилась оценка тубулоинтерстициальных изменений паренхимы почек у больных нефролитиазом на различных этапах хирургического лечения с использованием медиаторов нефрофиброза и ангиогенеза и нефробиопсии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализированы результаты оперативного лечения 65 больных нефролитиазом. Контрольную группу составили 20 здоровых добровольцев. Группы были сопоставимых по полу и возрасту.

Средний возраст пациентов – 47,0 \pm 9,4 лет. Рандомизация на группы произведена в соответствии с особенностями нефролитиаза. 1 группу составили 35 больных с односторонним поражением, во 2-ю группу вошли 30 пациентов с двухсторонним процессом. Большинство пациентов обеих групп страдали артериальной гипертензией.

В соответствии с классификацией, предложенной экспертами Национального почечного фонда США (NKF) и экспертной группой «Инициатива Качества Исходов Болезней Почек» (Kid-

ney Disease Outcome Quality Initiative, K/DOQI) 2005 г., пациенты были распределены по стадиям ХБП, при этом большая часть пациентов 2 группы была отнесена к более тяжелой 3 стадии ХБП ($p < 0,05$) (таблица 1).

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов с МКБ

Показатель		1 группа, n=35 Абс. число (%)	2 группа, n=30 Абс. число (%)
Пол	мужской	20 (57,1)	16 (53,3)
	женский	15 (42,9)	14 (46,7)
Средний возраст, кол-во лет		47,0±9,4	51,0±8,4
Артериальная гипертензия		32 (91,4)	27 (90,0)
Изолированные конкременты		20 (57,0)	12 (40,0)
Коралловидный нефролитиаз		15 (42,8)	18 (60,0)
ХБП I (K/DOQI)		15 (42,8)*	7 (23,0)
ХБП II		20 (57,0)	14 (47,0)
ХБП III		–	9 (30,0)*

* – достоверность различий при сравнении в группах ($p < 0,05$)

Большей части пациентов выполняли дистанционную литотрипсию, 62% пациентов, кроме того у 18% больных применены иные малоинвазивные вмешательства. Вместе с тем, у 20% пациентов потребовалось открытое оперативное вмешательство в объеме пиелолитотомии, а также нефропиелокаликотомии с различными видами дренирования.

Критериями исключения из исследования являлись: возраст старше 60 лет, острый пиелонефрит, блокада мочевых путей с выраженным гидро- и пионефрозом, острая почечная недостаточность, пациенты с 4-5 стадией ХБП, больные с конкрементами мочеточников и нижних мочевых путей, а также пациенты с тяжелой сопутствующей

патологией, влияющей на морфофункциональное состояние почек (сахарный диабет, декомпенсированная недостаточность кровообращения, диффузные заболевания соединительной ткани), в том числе выраженной артериальной гипертензией и онкологическими заболеваниями.

Кроме стандартных методов диагностики, включающих лабораторные методы, обзорную и экскреторную урографию, УЗ-сканирование, радионуклидные исследования пациентам обеих групп определяли наиболее значимые медиаторы нефрофиброза в сыворотке крови (интерлейкин 6 (ИЛ6), интерлейкин 8 (ИЛ8), интерлейкин 12 (ИЛ12), трансформирующий ростовой фактор – бета (TGFβ), васкулярный эндотели-

альный ростовой фактор (VEGF), оксид азота (NO). В моче определяли: $\beta 2$ микроглобулин мочи ($\beta 2$ МГ), моноцитарный хемоаттрактивный протеин-1 (MCP-1), оксид азота (NO).

Исследование проводили с использованием метода твердофазного иммуноферментного анализа и наборов реактивов. Общепринятым методом определения уровня NO в биологических жидкостях являлась суммарная оценка нитритов и нитратов [7]. В работе был использован метод непрямой оценки продукции NO по стабильному продукту – нитриту с реактивом Грисса. Концентрации изучаемых медиаторов определяли трижды: на дооперационном этапе, на 7-10 сутки и через 1-3 месяца после операции.

Для оценки возможности использования исследуемых показателей при МКБ в качестве маркеров неблагоприятного течения заболевания и прогрессирования ХБП были проанализированы результаты 15 операционных биопсий. В качестве контроля использовали секционный материал, полученный во время проведения судебно-медицинской экспертизы 10 лиц, сопоставимых по полу и возрасту, умерших от заболеваний, не связанных с патологией почек. Полученный материал фиксировали в 10%-нейтральном формалине, обезвоживали в ацетон-ксилоловой батарее и заливали в парафин. Срезы толщиной 3-5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и пикрофуксиновой

смесью по методу Ван-Гизона, трихромом по Массону для выявления степени развития склероза. Для оценки признаков дезорганизации соединительной ткани использовали трехцветную окраску на фибрин (ОКГ).

Описание морфологии проводили по определенному алгоритму изучения нефробиоптата. Оценивали размеры и количество склерозированных клубочков, степень атрофии и диаметр извитых канальцев, степень выраженности фиброза, клеточной инфильтрации в строме, состояние стенок артерий.

При анализе полученных результатов использовали морфологическую классификацию, предложенную В.В. Ставской, С.И. Рябовым (1987 г.) [8], согласно которой степени тубулоинтерстициальных изменений (ТИИ) определяли как незначительную (субатрофия канальцев, очаговый нежно-волокнистый фиброз интерстиция и незначительное утолщение стенок артерий и артериол), умеренную (умеренные тубулоинтерстициальные изменения, сопровождаются усилением склероза стромы и лимфогистиоцитарной инфильтрации) и выраженную (выраженные повреждения тубулоинтерстициального аппарата почек, сопровождающиеся диффузной лимфогистиоцитарной инфильтрацией интерстиция на фоне атрофии канальцев, фиброза и склерозирования сосудистой стенки), составляющие до 30%, от 30 до 70% и более 70% повреждения тубулоинтерстици-

ального аппарата почки соответственно. Для обработки данных был использован пакет прикладных статистических программ STATISTICA 10.0 (StatSoft® Inc.). Предварительная статистическая обработка данных заключалась в проверке соответствия формы распределения количественных признаков нормальному, для чего использовали критерий Шапиро-Уилка, а также равенства генеральных дисперсий с помощью F-критерия Фишера. Нулевую гипотезу отвергали в случае $p < 0,05$. Исследование взаимосвязи между количественными признаками осуществляли при помощи парного коэффициента линейной корреляции Спирмена, при этом определяли наличие связи, ее направление и силу.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования было выявлено достоверное увеличение концентрации исследуемых показателей у больных нефролитиазом по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$). В то же время при сравнительном анализе уровней профибротических цитокинов в группах больных, показатели во 2-й группе оказались достоверно выше всех величин в сравнении с 1-й группой ($p < 0,05$).

У пациентов с незначительными ТИИ статистически значимые различия по сравнению с группой контроля касались только морфометрии сосудистой системы почки ($p < 0,05$). У 30% боль-

ных 1-й группы, 60% – 2-й и 10% – 3-й групп наблюдения при морфометрическом исследовании отмечали значительное увеличение размеров эпителиоцитов на фоне статистически значимого по сравнению с группой контроля уменьшения диаметра извитых канальцев ($p < 0,05$). У пациентов с умеренными ТИИ толщина стенки артерий продолжала прогрессивно возрастать; лимфогистиоцитарные инфильтраты располагались преимущественно в корковом слое. При этом изменения со стороны клубочкового аппарата статистически незначимы. Незначительные ТИИ имелись только у пациентов 1-й группы (33%), большинство пациентов 1 и 2 групп имели умеренные тубулоинтерстициальные изменения, а у 45% больных с двухсторонним нефролитиазом имелись выраженные ТИИ. При этом именно у пациентов 2 группы отмечалось более выраженное снижение почечных функций, о чем свидетельствует присутствие в этой группе больных с 3 стадией ХБП. При проведении корреляционного анализа получена умеренная корреляция между степенью тубулоинтерстициальных изменений и стадией ХБП ($r = 0,5$).

Таким образом, сопоставляя данные, полученные при лабораторной диагностике на дооперационном этапе с результатами морфометрии, можно считать, что исследуемые молекулярные медиаторы допустимо использовать в качестве неинвазивных маркеров неф-

рофиброза, в частности при динамической оценке результатов хирургического лечения нефролитиаза.

Для динамической оценки активности процессов нефрофиброза в раннем

послеоперационном периоде (на 7-10 сутки), у всех пациентов были определены концентрации профибротических медиаторов в сыворотке крови и в моче (таблица 2).

Таблица 2. Оценка концентрации профибротических медиаторов у больных нефролитиазом через 7-10 дней после операции

Показатель	1 группа, n=35	2 группа, n=30
ИЛ6 сыворотки, пг/мл	10,0±2,3	12,0±3,2
ИЛ12 сыворотки, пг/мл	125,0±20,2	179,0±25,4*
TGFβ сыворотки, нг/мл	5,3±0,3	5,2±0,25
VEGF сыворотки, пг/мл	491,0±19,7	492,0±31,4
NO сыворотки, мкмоль/л	19,0±5,4	20,0±3,7
β2 МГ мочи, мкг/мл	0,4±0,03	0,6±0,02*
МСР1 мочи, пг/мл	830,0±94,0	1202,0±130,0*
NO мочи, мкмоль/л	14,0±3,3	30,0±2,6*

* – достоверность различий при сравнении в группах ($p < 0,05$)

У большинства пациентов обеих групп, несмотря на выполненное в полном объеме хирургическое вмешательство, позволяющее в большинстве случаев добиться ликвидации конкрементов, сохранялся повышенный уровень исследуемых маркеров и даже тенденция к увеличению некоторых из них, что, по нашему мнению, обусловлено активацией процессов фибро- и ангиогенеза вследствие операционной травмы.

Через 1-3 месяца после операции у пациентов 1 группы отмечалась тенденция к снижению ряда профибротических медиаторов (ИЛ12, VEGF, NO мочи, МСР1), а у пациентов 2 группы

ряд показателей, таких как ИЛ12, VEGF, NO сыворотки, β2 МГ, МСР1 в моче, имел тенденцию к повышению, что скорее всего обусловлено тем, что среди пациентов данной группы подавляющее большинство составляли пациенты с умеренными изменениями тубулоинтерстициальной зоны с возможным формированием с выраженного тубулоинтерстициального фиброза необратимого характера на фоне активации процессов ангиогенеза (таблица 3).

Таким образом, в ходе хирургического лечения больных односторонним нефролитиазом на основании исследуемых маркеров нефрофиброза, несмотря на результативность большин-

Таблица 3. Оценка концентрации профибротических медиаторов у больных нефролитиазом через 1-3 месяца после операции

Показатель	1 группа, n=35	2 группа, n=30
ИЛ6 сыворотки, пг/мл	4,7±1,3	9,2±3,2
ИЛ12 сыворотки, пг/мл	114,0±10,2	191,0±20,4*
TGFβ сыворотки, нг/мл	4,9±0,4	5,2±0,5
VEGF сыворотки, пг/мл	208,0±16,7	500,0±21,4*
NO сыворотки, мкмоль/л	20,6±3,2	24,0±3,7
β2 МГ мочи, мкг/мл	0,3±0,05	0,58±0,04
МСР1 мочи, пг/мл	544,0±64,0	1176,0±78*
NO мочи, мкмоль/л	6,2±2,3	15,5±3,6*

* – достоверность различий при сравнении в группах ($p < 0,05$)

ства оперативных вмешательств, не было получено достоверного подтверждения меньшей выраженности тубулоинтерстициального фиброза. У пациентов с двухсторонним поражением через 1-3 месяца после оперативного вмешательства регистрировалось усиление процессов нефрофиброза, что побуждало к использованию у данных пациентов нефропротективной терапии.

ВЫВОДЫ

1. Прогрессирование нефрофиброза у больных нефролитиазом после оперативного лечения, подтвержденное данными морфометрии интраоперационных нефробиоптатов, обусловлено продолженным поражением тубулоинтерстициальной ткани.

2. Провоспалительные и профибротические молекулярные медиаторы (ИЛ6, ИЛ12, TGF β, VEGF, NO, β2 МГ, МСР1 и NO), коррелирующие с параметрами морфометрии, могут быть использованы в качестве маркеров ТИИ и нефрофиброза на различных этапах лечения нефролитиаза.

3. Оперативное вмешательство несмотря на улучшение процессов уро- и гемодинамики приводит к активации процессов нефрофиброза, что требует определения путей коррекции данного состояния.

4. У больных с двухсторонним нефролитиазом сохраняющиеся в послеоперационном периоде высокие уровни показателей нефрофиброза могут свидетельствовать о необратимости изменений, ведущих к прогрессированию ХБП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дзеранов, Н.К. Мочекаменная болезнь. Клинические рекомендации / Н.К. Дзеранов, Н.А. Лопаткин. – М., 2007. – С.29.
2. Klahr, S. Obstructive nephropathy / S. Klahr // *Kidney Int.* – 1998, Vol. 54. – P.286-300.
3. Земченков, А.Ю. К/ДОКИ обращается к истокам хронической почечной недостаточности (о новом разделе Рекомендаций К/DOQI по диагностике, классификации и оценке тяжести хронических заболеваний почек) / А.Ю. Земченков, Н.А. Томилина // *Нефрология и диализ.* – 2004. – №3. – С.204-220.
4. Fine, L.G. Chronic hypoxia as a mechanism of progression of chronic kidney diseases: from hypothesis to novel therapeutics / L.G. Fine, J.T. Norman // *Kidney Int.* – 2008. – Vol.16 – P.98-106.
5. Pathogenesis of chronic renal failure in the primary glomerulopathies, renal vasculopathies and chronic interstitial nephritides / A. Boble, G.A. Muller, W. Webmann et al. // *Kidney Int.* – 1996. – Vol.54. – P.2-9.
6. Wada, T. Chemokines: new target molecules in renal diseases / T. Wada // *Clin Exp Neph.* – 2000. – Vol.4. – P.273-280.
7. Nitrite and nitrate determination in plasma: A critical evaluation / H. Mosbague, B. Kok, R. Huzenga et al. // *Clin Chem.* – 1995. – Vol.41. – P.892-896.
8. О клиническом значении тубулоинтерстициальных изменений при хроническом гломерулонефрите / В.В. Ставская, С.И. Рябов, И.К. Клемина // *Клин. мед.* – 1987. – №10. – С.125-129.

– ✦ –