

Клиническое значение определения белков в моче для диагностики рефлюкс-нефропатии у детей

Б.М.Махачев¹, А.А.Корсунский², Г.А.Гаджимирзаев¹, В.В.Длин³, И.М.Османов³, Е.А.Филина²

¹Дагестанская медицинская академия;

²Российский государственный медицинский университет, Москва;

³Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Министерства здравоохранения и социального развития РФ

У 60 детей в возрасте от 3-х мес до 14 лет с пузырно-мочеточниковым рефлюксом (ПМР) определяли уровень микроальбумина, ретинолсвязывающего белка, миоглобина в моче. Больные были распределены на 2 группы – с первичным и вторичным ПМР. Установлена взаимосвязь уровня белков в моче с наличием рефлюкс-нефропатии и ее выраженностью. Не выявлено связи уровня экскреции белков при двухстороннем ПМР, а также с имеющейся аномалией или с перенесенной инфекцией органов мочевой системы в анамнезе. Наиболее высокочувствительным тестом для диагностики рефлюкс-нефропатии оказалось определение уровня микроальбумина в моче, а именно повышение его более чем до 19,1 мг/л. Таким образом, определение уровня белков в моче, особенно микроальбумина, высоко информативно для диагностики рефлюкс-нефропатии, позволяет своевременно провести корректирующие мероприятия и замедлить формирование хронической почечной недостаточности.

Ключевые слова: пузырно-мочеточниковый рефлюкс, рефлюкс-нефропатия, белки мочи, микроальбуминурия, ретинолсвязывающий белок, миоглобинурия

Clinical implications of determining urine proteins for diagnosing reflux-nephropathy in children

B.M.Makhachev¹, A.A.Korsunskiy², G.A.Gadjimirzaev¹, V.V.Dlin³, I.M.Osmanov³, E.A.Filina²

¹Dagestan Medical Academy;

²Russian State Medical University, Moscow;

³Moscow Research Institute of Pediatrics and Pediatric Surgery, Ministry of Public Health and Social Development of the Russian Federation

In 60 children from 3 months to 14 years old with vesicoureteral reflux (VUR) the levels of microalbumin, retinol binding protein, myoglobin in urine were determined. The patients were divided into 2 groups – with primary and secondary VUR. A relationship between the level of urine proteins and the presence of reflux-nephropathy and its pronouncedness was found. No connection with the level of protein excretion in bilateral VUR, neither with a current anomaly or with a history of urinary infection was established. The most sensitive test for diagnosing reflux-nephropathy proved to be determination of the level of microalbumin in urine, namely, its increase above 19.1 mg/l. Therefore, determination of the protein level in urine, especially that of microalbumin, is highly informative for diagnosing reflux-nephropathy, permits to take correcting measures in due time and to slow down the formation of chronic renal insufficiency.

Key words: vesicoureteral reflux, reflux-nephropathy, urine proteins, microalbuminuria, retinol binding protein, myoglobinuria

Частота пузырно-мочеточникового рефлюкса у детей по данным различных авторов высока и встречается у 35–66,4% больных с аномалиями и инфекцией мочевой системы [1–3]. Важность ранней диагностики и лечения детей с ПМР обусловлена тем, что рефлюкс-нефропатия является одной из наиболее частых причин развития хронической почечной недостаточности у детей и взрослых [2].

Данные о частоте формирования рефлюкс-нефропатии неоднозначны, что связано с различными подходами к диагностике, а также с разной степенью выраженности ПМР. Кроме того, к фокальному интерстициальному склерозу (кроме ПМР) могут привести хронический пиелонефрит и почечная гипоплазия [4]. У больных с ПМР рефлюкс-нефропатия связана с развитием очагового тубулоинтерстициального нефрита [5].

A.Kaminska et al. (2000) показали высокую значимость определения уровня бета-2 микроглобулина в моче и крови для диагностики воспалительного поражения почек у детей с ПМР [6]. D.C.Hanbury et al. (1992) установили большое диагностическое значение протеинурии у детей с ПМР, осложнившимся развитием рефлюкс-нефропатии [7]. C.D.Goonasekera et al. (1996) у больных с ПМР и рефлюкс-

Для корреспонденции:

Длин Владимир Викторович, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отделения приобретенных и наследственных болезней почек Московского НИИ педиатрии и детской хирургии Министерства здравоохранения и социального развития РФ

Адрес: 123400, Москва, ул. Талдомская, 2

Телефон: (095) 483-3653

Статья поступила 08.04.2004 г., принята к печати 01.10.2004 г.

нефропатией после хирургической коррекции (реимплантации мочеточника) выявили взаимосвязь уровня ретинол-связывающего белка с активностью ренина плазмы, систолическим АД и степенью склероза (одностороннего или двухстороннего), в то время как микроальбуминурия коррелировала с систолическим АД [8]. Авторы считают, что повышенный уровень протеинурии, особенно ретинолсвязывающего белка, у больных с рефлюкс-нефропатией зависит от клубочковой фильтрации. Их взаимосвязь с активностью ренина плазмы может быть объяснена с позиций сегментарной гиперперфузии.

Хотя рефлюкс-нефропатия является одной из наиболее важных причин развития почечной недостаточности у подростков и лиц молодого возраста, до настоящего времени не имеется достоверных маркеров, прогнозирующих ее течение [9]. Такими маркерами могут быть различные белки мочи, которые играют важную роль в диагностике рефлюкс-нефропатии [10]. У пациентов с этим заболеванием наблюдается снижение почечного функционального резерва, а микроальбуминурия нарастает даже после хирургического устранения ПМР высокой степени, что является неблагоприятным симптомом, указывающим на возможность дальнейшего снижения функции почек у этих детей [11]. Ota S. et al. (1996) показали, что не микроальбуминурию, а определение альфа 1-микроглобулина в моче можно использовать в качестве маркера, прогнозирующего течение рефлюкс-нефропатии [9]. Сходные данные были получены Konda R. et al. (1997), которые предложили использовать уровень альфа-1 микроглобулина мочи в качестве предиктора риска снижения почечной функции у детей с рефлюкс-нефропатией даже при отсутствии значимой протеинурии [12]. Авторами была доказана более высокая чувствительность этого метода по сравнению с определением уровня бета-2 микроглобулина и микроальбумина в моче. Иные данные были получены P.A.Tomlinson et al. (1994), которые наблюдали повышение уровня экскреции ретинол-связывающего белка и альбуминурию у детей с двухсторонним поражением почек [13]. По мнению авторов, уровень ретинол-связывающего белка в моче отражает степень прогрессирования рефлюкс-нефропатии, а сама тубулярная дисфункция имеет связь с гиперперфузией в нефроне при двухстороннем поражении почек [13].

Таким образом, немногочисленные данные литературы указывают на возможность использования определения уровня отдельных белков в моче как для ранней диагностики рефлюкс-нефропатии, так и для контроля за ее течением. Настоящее исследование было проведено для уточнения клинического значения определения уровня отдельных белков в моче у пациентов с рефлюкс-нефропатией. Основной задачей работы явился поиск неинвазивного информативного способа диагностики рефлюкс-нефропатии у детей до появления нефросцинтиграфических признаков поражения почек.

Пациенты и методы

Мы наблюдали 60 детей в возрасте от 3 месяцев до 14 лет, в том числе 25 – с первичным (1 группа) и 35 – с вторичным ПМР (2 группа). Все дети на момент обследования находились в стадии клинико-лабораторной ремис-

Таблица 1. Степень выраженности и частота двухстороннего ПМР у обследованных детей

Выраженность ПМР	1 группа (n = 25)		2 группа (n = 35)	
	абс	q	абс	q
1–2 степени	7	0,28	10	0,29
3–5 степени	18	0,72*	25	0,71*
Количество двухстороннего ПМР	12 (0,48)		9 (0,26)	

* $p < 0,05$ в изучаемых группах.

сии воспалительного процесса в почках. Среди них было 15 мальчиков и 43 девочки, преобладали дети в возрасте с 3 до 12 лет. До года было всего 4 ребенка, а старше 12 лет – 5 пациентов.

Как следует из табл. 1 у больных как с первичным так и с вторичным ПМР высокие его степени встречались в 2,5 раза чаще. В группе детей с врожденным ПМР он был почти в половине случаев двухсторонним.

Состояние почечной паренхимы оценивалось на основании рентгенологического (экскреторная урография) и ультразвукового обследования. У 34 пациентов была произведена статическая нефросцинтиграфия.

У всех больных определялся уровень микроальбумина, ретинолсвязывающего белка и миоглобина в моче. Для исследования использовалась вторая утренняя порция мочи, образцы которой хранили при температуре минус 20°C до момента выполнения анализа.

Микроальбуминурия определялась на биохимическом анализаторе «Spectrum II» фирмы «Эббот» (США) с наборами фирмы «Randox» (Великобритания) иммуноферментным методом. Моча для исследования собиралась в стеклянную посуду с добавлением детергента (Тритон X.100; 0,1%) и также хранилась при температуре минус 20°C.

Полученные результаты трактовались в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя (норма 1,7–22,9 мг/л).

Миоглобин в моче определялся иммуноферментным методом с помощью наборов фирмы «Иммунотех» на анализаторе «Униплан-ЗТ» (США). В норме миоглобин в моче отсутствует.

Ретинолсвязывающий белок (РСБ) определяли также иммуноферментным методом с помощью наборов фирмы «Randox» на том же анализаторе «Униплан-ЗТ» (США).

Трактовка полученных результатов проводилась в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя (в норме уровень РСБ составит менее 200 мкг/л мочи) [14].

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ показал, что у детей 1 группы средний уровень повышения экскреции с мочой микроальбумина, миоглобина и ретинолсвязывающего белка, был значительно выше, чем у пациентов второй группы. Но и во второй группе средний уровень этих белков в моче был достоверно выше нормальных значений (табл. 2).

У всех детей 1 группы и более чем у 2/3 детей 2 группы экскреция с мочой всех изучаемых белков была повышена ($M \pm \delta$) по сравнению с нормальными значениями (рис. 1). Частота повышения уровня экскреции с мочой различных белков внутри групп отличались незначительно, что указывает на высокую чувствительность и специфичность этих показателей.

Таблица 2. Уровень экскреции белков с мочой ($M \pm m$) в изучаемых группах детей

Группы	Уровень белков в моче		
	Микроальбумин (мг/л)	Миоглобин (нг/мл)	Ретинолсвязывающий белок (мг/л)
1 группа (n = 25)	65,9 ± 10,5	49,3 ± 5,2	276,2 ± 34,6
2 группа (n = 35)	31,4 ± 5,4	27,1 ± 4,1	156,2 ± 16,3
Нормальные значения	8,8 ± 2,6	7,8 ± 0,9	102,9 ± 13,5
P_{1-2}	< 0,01	< 0,01	< 0,01
P_{1-3}	< 0,01	< 0,01	< 0,01
P_{2-3}	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Установлена взаимосвязь уровня экскреции с мочой изучаемых белков со степенью ПМР: у детей с 3–5 степенью она была выше, хотя и недостоверно (табл. 3). Частота встречаемости повышенного уровня этих белков в моче при ПМР высокой степени была более чем в два раза выше (рис. 2). Необходимо отметить, что все обследования проводились в период ремиссии пиелонефрита, продолжавшейся не менее 4 нед.

Произведен анализ уровня экскреции белков с мочой в зависимости от наличия и степени выраженности рефлюкс-нефропатии (РН). Установлена четкая взаимосвязь и высокая чувствительность показателей изучаемых белков, особенно альбуминурии, для диагностики этого состояния (табл. 4). Сопоставления проведены у 34 больных полностью обследованных с целью выявления и определения степени рефлюкс-нефропатии (эхолокация почек, урография, статическая нефросцинтиграфия). У 26 из 34 пациентов (76,5%) была диагностирована рефлюкс-нефропатия различной степени выраженности, у остальных рефлюкс-нефропатия не была выявлена.

Уровень экскреции всех изучаемых белков у детей с рефлюкс-нефропатией 3–4 и 1–2 степени был достоверно по-

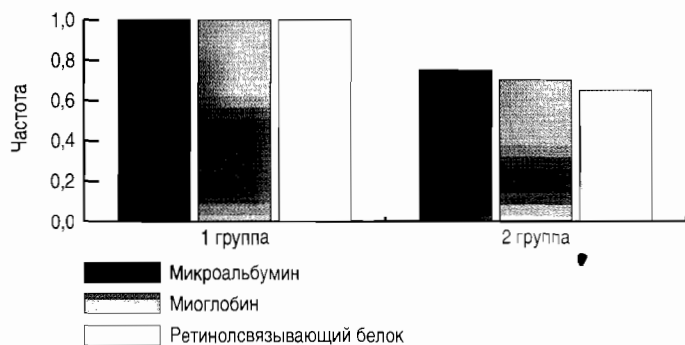


Рис. 1. Частота повышенного уровня экскреции белков с мочой в изучаемых группах детей.

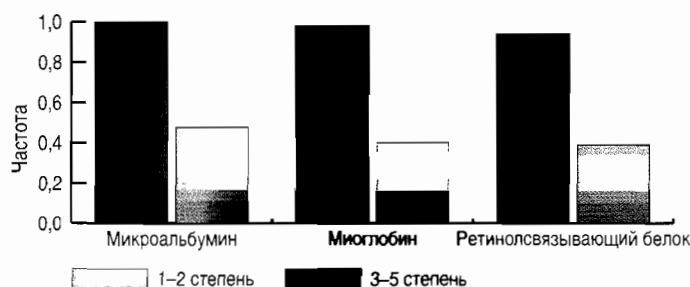


Рис. 2. Взаимосвязь частоты повышенного уровня экскреции изучаемых белков со степенью пузырно-мочеточникового рефлюкса.

Таблица 3. Уровень экскреции белков с мочой ($M \pm m$) в зависимости от степени ПМР

Группы	Уровень белков в моче		
	Микроальбумин (мг/л)	Миоглобин (нг/мл)	Ретинолсвязывающий белок (мг/л)
1. ПМР 3–5 степени (n = 43)	49,2 ± 9,6	40,6 ± 7,4	270,4 ± 51,2
2. ПМР 1–2 степени (n = 17)	37,1 ± 7,9	25,6 ± 6,9	172,5 ± 24,5
3. Нормальные значения	8,8 ± 2,6	7,8 ± 0,9	102,9 ± 13,5
P_{1-2}	> 0,05	> 0,05	> 0,05
P_{1-3}	< 0,01	< 0,01	< 0,01
P_{2-3}	< 0,01	< 0,05	< 0,05

вышен (рис. 3). При отсутствии рефлюкс-нефропатии этот уровень достоверно не отличался от нормы, хотя и наблюдалась тенденция к более высоким их показателям (за счет высокой экскреции белков у двух пациентов – более чем в два раза превышающих нормальные значения). Можно предположить, что у этих двух больных имела место ранняя стадия рефлюкс-нефропатии, которая другими методами не выявлялась.

У детей с рефлюкс-нефропатией 3–4 степени установлено равное повышение экскреции всех изучаемых белков ($M \pm \delta$), а при РН 1–2 степени у всех была повышена только экскреция микроальбумина, миоглобина – у $4/5$ и ретинолсвязывающего белка – у $3/4$ пациентов.

Был проведен также анализ взаимосвязи уровня экскреции белков с мочой с наличием аномалий и инфекций (в анамнезе) органов мочевой системы (ОМС), 2-стороннего ПМР и протеинурии у 60 детей.

Достоверной зависимости уровня экскреции изучаемых белков в моче от наличия или отсутствия аномалий и инфекций ОМС и двухсторонности ПМР не было установлено. У детей с протеинурией уровень изучаемых белков в моче был достоверно выше. У этих пациентов была диагностирована рефлюкс-нефропатия 1–2 (у 2) и 3–4 степени (у 6) по данным инструментального исследования (урографии, УЗИ почек и нефросцинтиграфии).

Проведенные исследования показали связь уровня экскреции с мочой изучаемых белков со степенью выраженности ПМР и рефлюкс-нефропатией. При этом частота рефлюкс-нефропатии и повышенный уровень выведения белков с мочой оказались выше у пациентов с первичным ПМР. Определение уровня выведения белков с мочой, особенно микроальбумина, является весьма чувствительным методом для диагностики рефлюкс-нефропатии. Не выявляется взаимосвязи уровня белков в моче с аномалиями и инфек-

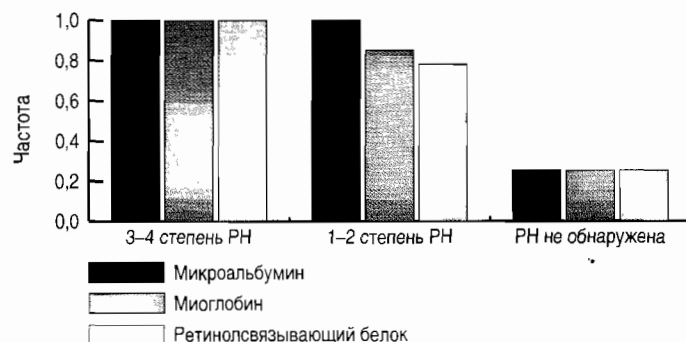


Рис. 3. Связь частоты повышенного уровня экскреции белков с выраженностью рефлюкс-нефропатии.

Таблица 4. Уровень экскреции белков с мочой ($M \pm m$) у детей с рефлюкс-нефропатией ($n = 34$)

Группы	Уровень белков в моче		
	Микроальбумин (мг/л)	Миоглобин (нг/мл)	Ретинолсвязывающий белок (мг/л)
1. Рефлюкс-нефропатия 3–4 степени ($n = 15$)	$54,3 \pm 6,7$	$48,1 \pm 8,7$	$305,1 \pm 49,9$
2. Рефлюкс-нефропатия 1–2 степени ($n = 11$)	$36,3 \pm 5,2$	$26,1 \pm 4,1$	$179,1 \pm 21,1$
3. Рефлюкс-нефропатия не обнаружена ($n = 8$)	$14,2 \pm 2,1$	$12,4 \pm 3,5$	$123,1 \pm 14,4$
Нормальные показатели	$8,8 \pm 2,6$	$7,8 \pm 0,9$	$102,9 \pm 23,5$
p_{1-2}	$< 0,05$	$< 0,05$	$< 0,05$
p_{1-3}	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 0,01$
p_{1-4}	$< 0,01$	$< 0,01$	$< 0,01$
p_{2-3}	$< 0,01$	$< 0,05$	$< 0,05$
p_{2-4}	$< 0,01$	$< 0,02$	$< 0,05$
p_{3-4}	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$

циями ОМС с двухсторонностью ПМР. Последнее противоречит результатам, представленным Tomlinson P.A. et al. (1994) в отношении ретинолсвязывающего белка и альбуминурии, что, возможно, связано с различными подходами к формированию групп пациентов. Показано также, что чувствительность определения протеинурии для диагностики рефлюкс-нефропатии невысока и составляет всего 30%. Это утверждение противоречит исследованиям Hanbury D.C. et al. (1992), которые придают большое диагностическое значение протеинурии при ПМР, осложнившейся рефлюкс-нефропатией, но соответствуют данным, представленным P.A.Tomlinson (1992) и S.Ota et al. (1996), свидетельствующим о низкой диагностической ценности протеинурии при рефлюкс-нефропатии.

Таким образом, наиболее высокочувствительным тестом для диагностики рефлюкс-нефропатии является определение уровня микроальбуминурии. Для РН характерно повышение уровня микроальбумина за пределы $19,1$ мг/л при отсутствии признаков инфекции мочевой системы. Чувствительность теста более 95%. Для миоглобина диагностический уровень составляет $22,2$ нг/мл (чувствительность менее 70%) и для ретинолсвязывающего белка – $163,8$ мкг/л (чувствительность менее 50%). Полученные нами данные позволяют предположить возможность начала формирования рефлюкс-нефропатии еще у двух пациентов, у которых она не была обнаружена доступными методами. Это свидетельствует о высокой чувствительности метода определения некоторых белков в моче, в первую очередь микроальбумина, для диагностики рефлюкс-нефропатии. Можно предположить, что исследование экскреции с мочой белков позволит выявлять рефлюкс-нефропатию на более ранних стадиях за-

болевания. Поэтому целесообразно внедрение этого метода в стационарах и диагностических центрах. Обязательным условием является обследование в период ремиссии инфекции ОМС и пиелонефрита.

В заключение следует отметить, что важны не только ранняя диагностика рефлюкс-нефропатии, но и выявление достоверных маркеров, прогнозирующих ее течение. Такими маркерами могут быть различные белки мочи.

Литература

1. Аничкова И.В. Особенности течения пузырно-мочеточникового рефлюкса и рефлюкс-нефропатии в детском возрасте. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. СПб., 1997; 18.
2. Schulman S.L., Snyder H.M. Vesicoureteral reflux and reflux nephropathy in children. Curr Opin Pediatr 1993; 5(2): 191–7.
3. Yen C.W., Chen D.H. Urinary tract infection in children. J Microbiol Immunol Infect 1999; 32(3): 199–205.
4. Cochat P., Dubourg L., Bouvier R., et al. Parenchymatous cicatrix and urinary tract infection: physiopathology and clinical implications. Arch Pediatr 1998; 5(3): 290–5.
5. Jones C.L., Eddy A.A. Tubulointerstitial nephritis. Pediatr Nephrol 1992; 6(6): 572–86.
6. Kaminska A., Jung A., Olszewski S., et al. Beta-2 microglobulinuria in children with vesico-ureteral reflux and recurrent urinary tract infections. Pol Merkuriusz Lek 2000; 8(46): 240–1.
7. Hanbury D.C., Calvin J. Proteinuria and enzymuria in vesicoureteric reflux. Br J Urol 1992; 70(6): 603–9.
8. Goonasekera C.D., Shah V., Dillon M.J. Tubular proteinuria in reflux nephropathy: post ureteric re-implantation. Pediatr Nephrol 1996; 10(5): 559–63.
9. Ota S., Konda R., Sakai K., et al. Renal function in children with reflux nephropathy followed up more than 10 years after disappearance of vesicoureteral reflux: usefulness of alfa-1 microglobulin as a marker to predict the prognosis of these children. Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi 1996; 87(11): 1236–42.
10. Tomlinson P.A. Low molecular weight proteins in children with renal disease. Pediatr Nephrology 1992; 6(6): 565–71.
11. Valles P., Cruzado M. Renal functional reserve and microalbuminuria excretion in vesicoureteral reflux after surgery correction. Medicina (B Aires) 1993; 53(6): 507–13.
12. Konda R., Sakai K., Ota S., et al. Urinary excretion of epidermal growth factor in children with reflux nephropathy. J Urology 1997; 157(6): 2282–6.
13. Tomlinson P.A., Smellie J.M., Prescod N., et al. Differential excretion of urinary proteins in children with vesicoureteric reflux and reflux nephropathy. Pediatr Nephrology 1994; 8(1): 21–5.
14. Tomlinson P.A. The use of low molecular weight proteins in the diagnosis of renal tubular dysfunction in children. MD., The University of Auckland. 1996.