

©Г. Г. Нікуліна <https://orcid.org/0000-0002-5189-5604>

©Л. Я. Мигаль <https://orcid.org/0009-0007-2414-3291>

©В. Ф. Петербургський <https://orcid.org/0000-0003-3059-4607>

©О. А. Каліщук <https://orcid.org/0000-0002-1634-4620>

©Н. А. Калініна <https://orcid.org/0009-0004-3646-1164>

©І. Є. Сербіна <https://orcid.org/0000-0002-1678-348X>

©В. С. Савченко <https://orcid.org/0009-0009-2863-5853>

*Державна Установа «Інститут урології імені академіка О. Ф. Возіанова  
Національної академії медичних наук України», Київ, Україна*

## ЦИТОКІНО-ЕНЗИМОЛОГІЧНИЙ СТАТУС У СЕЧІ ДІТЕЙ З ВРОДЖЕНИМ МІХУРОВО-СЕЧОВІДНИМ РЕФЛЮКСОМ

**РЕЗЮМЕ. Мета** – визначити вміст фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), інтерлейкіну-1 $\beta$  (ІЛ-1 $\beta$ ), трансформуючого фактора росту  $\beta$ 1 (ТФР- $\beta$ 1) та рівні активності N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідази (НАГ), її термостабільного ізоферменту НАГ В та  $\beta$ -галактозидази ( $\beta$ -Гал) як цитокіно-ензімологічних маркерів функціонального стану каналцевого нефротелію у сечі дітей з вродженим міхурово-сечовідним рефлюксом (МСР) залежно від його локалізації.

**Матеріал і методи.** Обстежено 61 дитину (50 дівчаток та 11 хлопчиків) від 1 до 15 років та 25 практично здорових дітей (група контролю). На односторонній МСР хворіло 29 дітей, на двобічній – 32 хворих. Цитокінонові показники визначали імуноферментним, ензімологічним – колориметричним методом у ранковій сечі до реконструктивного лікування. Статистичне оброблення даних проводили після аналізу відповідності їх розподілу до нормально-го. Оцінювали середню арифметичну величину та її похибку.

**Результати.** Вміст ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та ТФР- $\beta$ 1, а також рівні активності НАГ, НАГ В та  $\beta$ -Гал у сечі хворих на односторонній МСР є вірогідно підвищеними, порівняно з аналогічними показниками контролю ( $p < 0,001$ ). Установлено вірогідне підвищення вмісту ФНП- $\alpha$  та ІЛ-1 $\beta$ , а також рівнів активності ензимів, що досліджувалися, у пацієнтів із двобічним процесом, порівняно з даними у групах хворих з одностороннім МСР ( $p < 0,05$ ).

**Висновки.** Статистично значиме підвищення показників, що досліджувалися, у дітей із вродженим МСР свідчить про наявність ішемічно-гіпоксичних, а також ймовірних фібростичних ушкоджень паренхіми нирки у дітей з МСР, особливо у пацієнтів з двобічним МСР, та про доцільність визначення цих показників задля уточнення діагностики та оптимізації лікувальної тактики.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** діти; вроджений міхурово-сечовідний рефлюкс; цитокіни; ензими; сеча.

**Вступ.** Як відомо, у розвитку та прогресуванні хронічної хвороби нирок у дітей позиції лідера займають саме вроджені вади нирок і сечовивідних шляхів (у 52,8 % випадків) [1]. У структурі дитячої урологічної патології вроджений міхурово-сечовідний рефлюкс (МСР) займає чільне місце [2, 3]. У хворих на МСР зворотний потік сечі із сечового міхура у напрямку нирок має ушкоджувальну дію на паренхіму нирки та сприяє поширенню інфекції з сечового міхура у верхні сечові шляхи та нирки. Інфекційні атаки досить швидко призводять до зморщування нирки [2]. У патогенезі ушкодження паренхіми нирки, передусім тубулоінтерстицію, у дітей з вродженим МСР важливе значення надається гіпоксії, яка стимулює як вироблення прозапальних цитокінів, зокрема фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), який ще називають «класичним» або «цитокіном першої хвилі» [4], головними продуцентами якого є клітини моноцитарно-макрофагального ряду, та інтерлейкіну-1 $\beta$  (ІЛ-1 $\beta$ ), який має великий спектр

імунологічної активності, у тому числі посилює синтез багатьох інтерлейкінів, стимулює продукцію простагландинів та колагенез фібробластів, так і вироблення трансформуючого фактора росту  $\beta$ 1 (ТФР- $\beta$ 1), який, поряд з протизапальними властивостями, чинить виражену просклеротичну дію за рахунок стимуляції фібробластів [5, 6]. Розвиток гіпоксично-ішемічних процесів у паренхімі нирки у хворих на вроджений МСР сприяє також активації тубулярних гідролаз лізосомного походження з умовно реноспецифічними властивостями, зокрема N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідази (НАГ), її термостабільного ізоферменту НАГ В та  $\beta$ -галактозидази ( $\beta$ -Гал) – біомаркерів функціонального стану тубулярного нефротелію. Зазначені ензими локалізовані переважно у проксимальних каналцях нефрона. Нирки, як відомо, є найбільшим джерелом ензимів, які виявляються у сечі. Ось чому реакція ферментних систем каналцевого апарату нирок на розвиток гіпоксії є найбільш ранньою та найінформативнішою [7, 8].

Виражені реноспецифічні властивості активності загальної НАГ, особливо її термостабільного ізоферменту НАГ В та  $\beta$ -Гал, підтверджено високим вмістом цих ензимів у нирках, високою їх молекулярною масою, що набагато перевищує нирковий поріг, та доведеною подібністю співвідношення ізоферментів НАГ саме у сечі здорових осіб до їх співвідношення у тканині нирок [7–9]. У доступній фаховій літературі мета-аналізів щодо діагностичної значущості використання комплексу цитокіно-ензимологічних показників у сечі дітей з вродженим МСР нами виявлено не було.

**Мета дослідження** – визначити вміст ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ТФР- $\beta$ 1 та рівні активності НАГ, НАГ В та  $\beta$ -Гал як цитокіно-ензимологічних маркерів функціонального стану канальцевого нефротелію у сечі дітей з вродженим МСР залежно від його локалізації.

**Матеріал і методи дослідження.** Обстежено 61 дитину (50 дівчаток та 11 хлопчиків) віком від 1 до 15 років з верифікованим діагнозом вродженого МСР та 25 практично здорових дітей (група контролю). На одnobічний МСР хворіло 29 дітей (група 1), на двобічний – 32 дитини (група 2). Функція нирок хворих дітей на момент дослідження збережена, атак гострого або загострення хронічного пієлонефриту не спостерігалось. Досліджен-

ня вмісту ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ТФР- $\beta$ 1, активності НАГ, НАГ В та  $\beta$ -Гал у ранковій порції сечі, яка була отримана після фізіологічного сечовипускання, здійснювали до реконструктивного лікування. Вміст ФНП- $\alpha$  та ІЛ-1 $\beta$ , ТФР- $\beta$ 1 сечі визначали імуноферментним методом з використанням тест-систем у відповідності з інструкцією виробника (пг/мл). Активність ензимів визначали колориметричним методом, результати розраховували у мкмоль паранітрофенолу, що утворився протягом 1 години інкубації, із розрахунку на 1 ммоль креатиніну сечі, який визначали за кольоровою реакцією Яффе з пікриновою кислотою (мкмоль/год/ммоль креатиніну) [10].

Статистичну обробку даних проводили після аналізу відповідності їх розподілу до нормально-го. Оцінювали середню арифметичну величину та її похибку ( $M \pm m$ ). Статистичну вірогідність результатів досліджень оцінювали за t-критерієм Стюдента за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel, порогом значущості відмінностей вважали  $p < 0,05$ .

**Результати й обговорення.** Встановлено, що вміст ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та ТФР- $\beta$ 1 у сечі хворих на вроджений одnobічний МСР (табл. 1) є вірогідно підвищеним, порівняно з аналогічними показниками контролю ( $p < 0,001$ ).

Таблиця 1. Вміст цитокінів фактора некрозу пухлин- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), інтерлейкіну-1 $\beta$  (ІЛ-1 $\beta$ ) та трансформуючого фактора росту- $\beta$ 1 (ТФР- $\beta$ 1 (пг/мл) у сечі дітей з одnobічним (група 1) та двобічним (група 2) міхурово-сечовідним рефлюксом ( $M \pm m$ )

| Клінічні групи.<br>Кількість хворих (n) | Вміст цитокінів (пг/мл) |                  |                  |
|-----------------------------------------|-------------------------|------------------|------------------|
|                                         | ФНП- $\alpha$           | ІЛ-1 $\beta$     | ТФР- $\beta$ 1   |
| 1 група, n = 29                         | 64,82 $\pm$ 4,91        | 24,51 $\pm$ 1,70 | 16,41 $\pm$ 2,32 |
| 2 група, n = 32                         | 83,70 $\pm$ 8,31        | 29,72 $\pm$ 1,90 | 16,92 $\pm$ 2,52 |
| 3. Контроль, n = 25                     | 9,70 $\pm$ 2,10         | 13,90 $\pm$ 1,70 | 3,50 $\pm$ 1,70  |
| $P_{1,2-3} <$                           | 0,001                   | 0,001            | 0,001            |
| $P_{3-2} <$                             | 0,05                    | 0,05             | –                |

У хворих на вроджений двобічний МСР, порівняно з аналогічними середніми показниками хворих на вроджений одnobічний МСР, має місце вірогідне підвищення вмісту прозапальних цитокінових показників ( $p < 0,5$ ) (табл. 1). Отримані результати, на нашу думку, на загальне свідчать про наявність ймовірних ішемічно-гіпоксичних, а також ймовірних фібропластичних ушкоджень паренхіми нирки у дітей із вродженим МСР, особливо у пацієнтів із двобічною локалізацією, оскільки, як відомо, прозапальні цитокіни сприяють накопиченню екстрацелюлярного матриксу, що є причиною розвитку тубулоінтерстиціального фіброзу [3]. Відсутність вірогідної різниці у рівнях екскреції ТФР- $\beta$ 1 як цитокіну з профіброгенною дією [4, 5] поміж групами з одnobічним та двобічним вродженим МСР свідчить, на нашу думку, про те, що в цих гру-

пах хворих, можливо, превалюють патологічні процеси фіброгенезу майже однакового ступеня виразності.

Як свідчать дані, наведені у таблиці 2, у пацієнтів із вродженим МСР з одnobічним процесом, порівняно з аналогічними даними контрольної групи, має місце статистично вірогідне підвищення рівнів активності всіх ферментів, що досліджувалися ( $p < 0,001$ ).

Нами також встановлено факт статистично вірогідного підвищення рівнів активності НАГ, НАГ В та  $\beta$ -Гал у хворих із вродженим МСР з двобічним процесом, порівняно з аналогічними даними у групах хворих з одnobічним процесом ( $p < 0,05$ ). Одержані результати вказують на те, що дисфункціональні зміни проксимального відділу апарата нефрона у дітей з вродженим двобічним МСР були

Таблиця 2. Активність ензимів N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозамінідази (НАГ), її термостабільного ізоензиму НАГ В та  $\beta$ -галактозидази ( $\beta$ -Гал у сечі дітей з одностороннім (група 1) та двостороннім (група 2) міхурово-сечовідним рефлюксом ( $M \pm m$ ))

| Клінічні групи.<br>Кількість хворих (n) | Активність ензимів (мкмоль/год/ммоль креатиніну) |                  |                  |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------|------------------|------------------|
|                                         | НАГ                                              | НАГ В            | $\beta$ -Гал     |
| 1 група, n = 29                         | 24,17 $\pm$ 0,94                                 | 6,57 $\pm$ 0,32  | 20,65 $\pm$ 0,97 |
| 2 група, n = 32                         | 27,24 $\pm$ 1,17                                 | 7,57 $\pm$ 0,37  | 23,93 $\pm$ 1,13 |
| 3. Контроль n =25                       | 11,64 $\pm$ 0,72                                 | 1,56 $\pm$ 0,096 | 9,58 $\pm$ 0,68  |
| $p_{1,2-3} <$                           | 0,001                                            | 0,001            | 0,001            |
| $p_{3-2} <$                             | 0,05                                             | 0,05             | 0,05             |

виражені більш суттєво, ніж у пацієнтів з вродженим одностороннім МСР. Отримані результати також додатково підкреслюють виражені реноспецифічні властивості всіх ферментів, що досліджувалися, що дозволяє використовувати ці ензимологічні показники для об'єктивної характеристики виразності ушкодження або функціональних зрушень каналцевого епітелію паренхіми нирок [6–9].

Як свідчать дані наведених досліджень, визначення вмісту прозапальних цитокінів ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та профіброгенного ТФР- $\beta$ 1, а також рівнів активності загальної НАГ, її термостабільного ізоферменту НАГ В та  $\beta$ -Гал як безпечних та інформативних маркерів функціонального стану каналцевого нефротелію у сечі дітей з вродженим МСР є доцільним, особливо це стосується хворих з двобічною локалізацією вродженого МСР, задля своєчасної діагностики, лікування та запобігання прогресуванню цього патологічного стану.

**Висновки.** 1. Встановлено статистично значимий рівень продукції прозапальних цитокінів ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , профіброгенного цитокіну ТФР- $\beta$ 1 та вірогідне підвищення активності ензимів тубулярного нефротелію загальної НАГ, її термостабільного ізоензиму НАГ В та  $\beta$ -Гал, у сечі дітей з вродженим одностороннім МСР, порівняно з аналогічними показниками контролю.

2. Вірогідне підвищення вмісту ФНП- $\alpha$  та ІЛ-1 $\beta$ , а також рівнів активності НАГ, НАГ В та  $\beta$ -Гал у сечі хворих на вроджений двобічний МСР, порівняно з хворими на односторонній МСР, свідчить про залежність рівнів екскреції цитокінів та активності ензимів від локалізації МСР.

3. Статистично значиме підвищення показників, що досліджувалися, у дітей з вродженим МСР, особливо з двобічним МСР, свідчить про доцільність визначення цих показників задля уточнення діагностики та оптимізації лікувальної тактики.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у продовженні вивчення цитокіно-ензимологічного статусу в сечі дітей з вродженим МСР у динаміці після реконструктивного лікування з метою уточнення оцінки його ефективності та, за необхідності, своєчасної корекції.

**Джерела фінансування.** Кошти державного бюджету.

#### Внесок авторів:

Г. Г. Нікуліна – концепція ідеї та дизайну дослідження дітей;

Л. Я. Мигаль – дослідження сечової активності ензимологічних показників, аналіз отриманих даних, написання статті;

В. Ф. Петербургський – концепція та дизайн обстеження хворих, інтерпретація та узагальнення клінічних даних;

О. А. Каліщук – відбір і курація пацієнтів, збір та аналіз клінічних та лабораторних даних;

Н. А. Калініна – дослідження імунологічних показників, аналіз отриманих даних;

І. Є. Сербіна – аналіз літературних джерел, статистичний аналіз сечових рівнів ензимологічних показників;

В. С. Савченко – статистичний аналіз клінічних та лабораторних даних, формування бази даних.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

#### ЛІТЕРАТУРА

- Кушніренко С. В. Етіологія хронічної хвороби нирок у дітей. *Урологія*. 2019. № 23, (4). С. 420–423. DOI: 10.26641/2307-5279.23.4.2019.187217
- Петербургський В. Ф., Каліщук О. А., Ключ А. Л. Обструкція сечоводу після ендоскопічної корекції міхурово-сечовідного рефлюксу в дітей. *Хірургія дитячого віку (Україна)*. 2023. №3. С. 78–82. DOI: 10.15574/PS.2023.80.78.

- Патогенетические основы формирования и принципы лечения обструктивных уропатий у детей / Зоркин С. Н. и др. *Вісник Вінницького Нац. університету*. 2007. № 11(1/1). С. 198–204.

- Луньова Г. Г., Кривенко Є. О. Зміна рівнів прозапальних цитокінів (ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-17) та розчинних молекул адгезії (VCFM-1 та Е-селектину) у хворих на хронічний гломерулонефрит в залежності від стадії

(II чи III) хронічної хвороби нирок. *Імунологія та алергологія: наука і практика*. 2011. № 4. С. 39–43.

5. Redirecting TGF- $\beta$  Signaling through the  $\beta$ -Catenin/Foxo Complex Prevents Kidney Fibrosis / Qiao X. et al. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2018. V. 29. No. 2. P. 557-570.

6. Connective tissue growth factor: potential role in glomerulosclerosis and tubulointerstitial fibrosis / Gupta S. et al. *Kidney Int.* 2000. V. 58. 1389-1399.

7. Mohkam M., Ghafari A. The Role of Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase in Diagnosis of Kidney Diseases. *Ped. Nephrology*. 2015. No. 3 (3). P. 84–91. DOI: 0.22037/jpn.v313.9365.

8. Мельник А. А. Диагностическая роль N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозаминидазы как раннего маркера повреждения почек. *Нирки*. 2016. № 4. С. 37–47.

9. Multberry B., Isaksson A. Enzyme immunoassay of  $\beta$ -hexosaminidase isoenzymes in human urine and renal cortex with monoclonal antibodies. *Enzyme*. 1989. No. 42 (1). P. 25-30.

10. Діагностичне значення лізосомної ферментурії у дітей з інфекцією сечової системи: метод. рекомендації / Багдасарова І.В. та ін. Міністерство охорони здоров'я України, Академія медичних наук України, Український Центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. Київ: [б. в.]. 2009. С. 1–19.

## REFERENCES

1. Kushnirenko SV. Etiology of chronic kidney disease in children. *Urology*. 2019; 23(4): 420-423. DOI: 10.26641/2307-5279.23.4.2019.187217

2. Peterburgsky VF, Kalishchuk OA, Klius AL. Ureteral obstruction after endoscopic treatment of the vesicoureteral reflux in children. *Paediatric Surgery (Ukraine)*. 2023; (3):78-82. DOI: 10.15574/PS.2023.80.78.

3. Zorkin SN, Khvorostov IN, Smirnov IE, Dvoryakovskiy IV, Skutyna LE. [Patogeneticheskiye osnovy formirovaniya i printsipy lecheniya obstruktyvnykh uropatiy u detey] Pathogenetic bases of formation and principles of treatment of obstructive uropathy in children. *Visnyk Vinnytsia National University*. 2007; 11(1/1):198-204. Ukrainian.

4. Lunyova HG, Kryvenko EO. Zmina rivniv prozapal'nykh tsytokiniv (FNP-a, IL-1b ta IL-17) ta rozchynnykh molekul adheziyi (VCFM-1 ta E-selektynu) u khvorykh na khronichnyy hlomerulonefryt v zalezhnosti vid stadiyi (II chy III) khronichnoyi khvoroby nyrok [Changes in the levels of pro-inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-17) and soluble adhesion molecules (VCFM-1 and E-selectin) in patients with chronic glomerulonephritis depending on the stage (II or III) of chronic kidney disease]. *Immunology and Allergology: Science and Practice*. 2011; (4): 39-43. Ukrainian.

5. Qiao X, Rao P, Zhang Y, et al. Redirecting TGF- $\beta$  Signaling through the  $\beta$ -Catenin/Foxo Complex Prevents

Kidney Fibrosis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2018; 29(2): 557-570.

6. Gupta S, Clarkson MR, Duggan J, et al. Connective tissue growth factor: potential role in glomerulosclerosis and tubulointerstitial fibrosis. *Kidney Int.* 2000; (58): 1389-1399.

7. Mohkam M, Ghafari A. The Role of Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase in Diagnosis of Kidney Diseases. *Ped. Nephrology*. 2015; 3(3): 84-91. DOI: 10.22037/jpn.v313.9365.

8. Melnyk AA. Diagnostic role of N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase as an early marker of kidney damage. *Kidneys*. 2016; (4): 37-47.

9. Multberry B, Isaksson A. Enzyme immunoassay of  $\beta$ -hexosaminidase isoenzymes in human urine and renal cortex with monoclonal antibodies. *Enzyme*. 1989; 42(1): 25-30.

10. Bagdasarova IV, Myhal LYa, Fomina SP, et al. Diahnostychnye znachennyya lizosomnoyi fermenturiyi u ditey z infektsiyeyu sechovoyi systemy: metod. rekomendatsiyi [Diagnostic value of lysosomal enzymuria in children with urinary tract infection: Method. Recommendations]. Ministry of Health of Ukraine, Academy of Medical Sciences of Ukraine, Ukrainian Center for Scientific Medical Information and Patent Licensing Work. Kyiv: [b.v.]. 2009; 1-19. Ukrainian.

**H. H. Nikulina, L. Ya. Myhal, V. F. Peterburgsky, O. A. Kalishchuk, N. A. Kalinina, I. E. Serbina, V. S. Savchenko**

*State Institution "Academician O.F. Vozianov Institute of Urology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv*

## CYTOKINE-ENZYMOLOGICAL STATUS OF URINE OF CHILDREN WITH CONGENITAL VESICoureTERAL REFLUX

**SUMMARY.** The aim – to determine the content of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) and the levels of activity of N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG), its thermostable isoenzyme NAG B and  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -Gal) as cytokine-enzymological markers of the functional state of tubular nephrocytes in the urine of children with congenital vesicoureteral reflux (VUR) depending on its localization.

**Material and Methods.** We examined 61 children (50 females and 11 males) aged 1 to 15 years and 25 practically healthy children (control group). There were 29 children with unilateral VUR and 32 with bilateral VUR. Cytokine

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

concentrations were determined by enzyme-linked immunosorbent assay, while enzymological parameters – by colorimetric method in morning urine before reconstructive treatment. Statistical processing of the data was performed after analyzing the conformity of their distribution to the normal one. The arithmetic mean and its error were estimated.

**Results.** The content of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and TGF- $\beta$ 1, as well as the levels of NAG, NAG B and  $\beta$ -Gal activity in the urine of patients with unilateral VUR were significantly higher compared with similar indicators of controls ( $p < 0.001$ ). A significant increase in the content of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ , as well as the levels of activity of the studied enzymes, was found in patients with bilateral process compared with the data in the groups of patients with unilateral VUR ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions.** A statistically significant increase in the studied parameters in children with congenital VUR indicates the presence of ischemic-hypoxic and probable fibrotic damage to the renal parenchyma in children with VUR, especially in patients with bilateral VUR. The expediency of determining these parameters to clarify the diagnosis and optimize treatment tactics is discussed.

**KEY WORDS:** children; congenital vesicoureteral reflux; cytokines; enzymes; urine.

Отримано 06.02.2025

Електронна адреса для листування: 0675076531@ukr.net