

© Крутиков Е.С., Белоглазов В.А., Окладникова С.Л., Гордиенко А.И., 2012

УДК: 616.61:616-092:618.3:616.34-008.14/15

КРУТИКОВ Е.С., БЕЛОГЛАЗОВ В.А., ОКЛАДНИКОВА С.Л., ГОРДИЕНКО А.И.

## КОРРЕКЦИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У БЕРЕМЕННЫХ С ХРОНИЧЕСКИМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ

*E. KRUTIKOV, V. BELOGLAZOV, S. OKLADNIKOVA, A. GORDIENKO*

### **CORRECTION IMMUNOLOGICAL DISORDERS IN PREGNANT WOMEN WITH CHRONIC PYELONEPHRITIS**

ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского»

**Ключевые слова:** пиелонефрит, иммунологические нарушения, беременные.

**Резюме.** Дослідження проведено з метою оцінки ефективності пребіотика лактулози як імунокорегуючого засобу при загостренні хронічного піелонефриту у вагітних із функціональними запорами.

*Матеріал та методи дослідження.* Проведено обстеження та лікування 37 вагітних жінок із загостренням хронічного піелонефриту, які страждають функціональними закрепами. Тривалість спостереження склала 28 діб. У всіх вагітних вивчали показники антиендотоксिनного імунітету, фагоцитарну активність клітин крові та рівень цитокінів.

*Результати дослідження.* Виявлено, що у пацієнток, які отримували лактулозу в комплексному лікуванні піелонефриту, нормалізуються такі показники антиендотоксिनного імунітету як Ig класів А, М і G до ліпополісахариду кишкової палички та рівень експресії ліпополісахаридз'язуючих рецепторів гранулоцитами і моноцитами периферичної крові, а також підвищується фагоцитарна активність гранулоцитів периферичної крові, як фактор неспецифічного захисту, при достовірно якнайшвидшому зниженні активності запальних реакцій.

*Висновки.* Використання пребіотика лактулози у комплексному лікуванні загострення хронічного піелонефриту у вагітних з функціональними закрепами веде до нормалізації вказаних показників антиендотоксिनного імунітету, а також до підвищення фагоцитарної активності гранулоцитів периферичної крові.

**Summary.** The aim of our study was to determine the effectiveness of prebiotic lactulose as a means immunocorrective during exacerbation of chronic pyelonephritis in pregnant women with functional constipation.

**Methods.** We examined and treated 37 pregnant women with exacerbation of chronic pyelonephritis and functional constipations.

*Results of the study.* It was found that patients treated with lactulose normalized indicators of antiendotoxin immunity Ig classes A, M and G to lipopolysaccharide of *Escherichia coli* and the expression level of receptors on granulocytes and monocytes of peripheral blood. Also increased phagocytic activity of peripheral blood granulocytes, as nonspecific defense factor, and significantly reduced activity of inflammatory reactions.

*Conclusions.* Use of prebiotic lactulose in the complex treatment of chronic pyelonephritis in pregnant women with functional constipation leads to normalization of parameters antiendotoxin immunity, and to increase phagocytic activity of peripheral blood granulocytes.

**ВСТУПЛЕНИЕ.** Воспалительные заболевания мочевыделительной системы занимают ведущее место в структуре экстрагенитальных болезней, развивающихся в гестационный период. По данным разных авторов гестационный пиелонефрит (ПН) и обострение хронического ПН при беременности диагностируются у 12-40% женщин [7, 11]. Указанная патология может

служить причиной различных аномалий течения беременности и родов, неблагоприятных исходов для плода, а иногда и для матери.

Известно, что у 63-75% беременных развивается функциональный запор (ФЗ) [2]. В этом случае происходят изменения в микрофлоре толстой кишки: снижается количество облигатных микроорганизмов и увеличивается число условно-патогенных. Нарушения кишечной флоры могут быть причиной различных изменений в системном и местном иммунитете, поскольку кишечный барьер регулирует проникновение в общий кровоток пищевых и микробных антигенов [8]. В их состав входят эндотоксины (ЭТ) и, в частности,

**Крутиков Евгений Сергеевич**  
e-mail: nephrostar@yandex.ru

липополисахариды (ЛПС) кишечной палочки (КП), которая является основным этиологическим фактором развития ПН. ЭТ, поступая в системный кровоток в чрезмерном количестве, способны вызвать «эндотоксиновую агрессию» (ЭА) [1]. Если на таком фоне развивается ПН, вызванный КП, последствия для беременных могут быть самыми неблагоприятными. Ранее в наших исследованиях была выявлена более высокая частота развития ПН у беременных с ФЗ – 28,1%, по сравнению с беременными без таковых (14,1%) [4].

Лечение ФЗ во время беременности чаще не ограничивается модификацией образа жизни и диетическими рекомендациями [2, 6]. Для лечения беременных используется пребиотик лактулоза, который увеличивает объем и размягчает кишечное содержимое, а также способствует росту бифидо- и лактобактерий [9]. Увеличение популяции данных микроорганизмов в кишечнике приводит к угнетению условно-патогенной флоры, в том числе и КП [8].

Влияние слабительных препаратов (в частности лактулозы) на течение пиелонефрита и состояние антиэндотоксинового звена иммунной системы в период гестации не освещено в литературе, в связи с чем авторами было проведено настоящее исследование.

**ЦЕЛЬ:** изучить динамику иммунологических показателей у беременных с обострением хронического пиелонефрита, протекающего на фоне функциональных запоров при включении лактулозы в комплекс лечения. Оценить эффективность лечения обострения хронического пиелонефрита беременных с функциональными запорами при включении пребиотика лактулозы как иммунокорректирующего средства при у.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.** В исследование были включены 37 беременных с обострением хронического ПН, страдающих ФЗ. Все пациентки находились на стационарном лечении в отделении экстрагенитальной патологии беременных городского клинического родильного дома №2 г. Симферополя. Средний возраст обследованных равнялся  $25,7 \pm 3,5$  лет. Срок беременности у обследованных составлял 22-38 недель. У всех беременных было диагностировано обострение хронического пиелонефрита (ХБП I стадии) в фазе активного воспаления I и II степени активности. Также при подборе больных были учтены основные и дополнительные критерии диагностики ФЗ (III Римский консенсус, 2006 г. [6]). Продолжительность наблюдения составила 28 дней. Все беременные получали антибактериальную, уросептическую и, по показаниям, спазмолитическую терапию по поводу обострения хронического ПН. Наблюдаемые пациентки были разделены на две группы. В I группу вошли

ли беременные, находившиеся на диете №3 по Певзнеру и получавшие пшеничные отруби по 1 столовой ложке 3 раза в день в качестве диетической добавки с целью коррекции нарушений эвакуаторной функции толстого кишечника. Больные II группы также питались согласно вышеуказанной диете и получали пребиотик лактулозу в дозировке 30-45 мл в сутки однократно после ужина, с последующим снижением дозы до поддерживающей (дозировка подбиралась в зависимости от индивидуальной чувствительности кишечника к препарату).

У всех беременных I и II групп до начала и после лечения на 28-е сутки было проведено исследование показателей АЭИ, фагоцитарной активности клеток периферической крови и уровня цитокинов. Состояние АЭИ оценивалось по уровню экспрессии ЛПС-связывающих рецепторов (ЛПССР) гранулоцитами и моноцитами периферической крови (ГиМПК), количеству антиэндотоксиновых антител классов А, М и G (IgA, IgM, IgG). Дополнительно проводили исследование фагоцитарных свойств ГПК: вычисляли фагоцитарный индекс (ФИ) и фагоцитарное число (ФЧ), а также исследовали содержание гранулоцит-колониестимулирующего фактора (G-CSF) и интерлейкина-1 $\alpha$  (ИЛ-1 $\alpha$ ) в сыворотке крови у беременных.

Уровень экспрессии ЛПССР ГиМПК определяли методом проточной лазерной цитофлуориметрии. IgA, IgM, IgG определяли методом твердофазного ИФА, применяя протоколы, разработанные в лаборатории клинической иммунологии ЦНИЛ Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского [5]. Уровень G-CSF и ИЛ-1 $\alpha$  определяли методом ИФА. Для определения использовали тест-системы производства ООО «Цитокин» (Россия).

Оценку достоверности результатов исследования проводили посредством параметрических методов статистической обработки данных, с использованием компьютерной программы MedStat 1.21.7.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.**

Проведенное обследование показало, что у женщин с обострением хронического ПН в период гестации, страдающих ФЗ, наблюдается ряд нарушений АЭИ, изменение фагоцитарной активности и уровня некоторых провоспалительных цитокинов. Так, выявлено достоверное повышение IgM ( $p < 0,05$ ) и IgG ( $p < 0,01$ ), а также рост уровня экспрессии ЛПССР ГиМПК ( $p < 0,05$ ). Необходимо отметить, что достоверно снизился ФИ ( $p < 0,05$ ) и уровень IgA ( $p < 0,05$ ). Также нами выявлен достоверный рост ИЛ1 $\alpha$  ( $p < 0,01$ ) и G-CSF ( $p < 0,05$ ).

ФЧ значительно не изменялось у беременных обеих групп до проведения лечения по сравнению с контролем.

Таблиця 1

**Показатели иммунологической реактивности у женщин при лечении хронического пиелонефрита в период гестации**

	Контроль (n=17)	I группа (n=19)		II группа (n=18)	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
IgA (усл. ед. опт. плотн.)	0,38±0,04	0,24±0,03*	0,27±0,03*	0,23±0,03*	0,42±0,04 **/***
IgM (усл. ед. опт. плотн.)	0,44±0,06	0,63±0,05*	0,52±0,02 **	0,57±0,05	0,41±0,06 **
IgG (усл. ед. опт. плотн.)	0,63±0,03	0,9±0,04*	0,76±0,05 */**	0,9±0,05*	0,62±0,04 **/***
Экспрессия ЛПССР (усл. ед. флюоресц)	0,69±0,08	0,92±0,09*	0,79±0,07	0,93±0,09*	0,61±0,05 **/***
ФИ (% клет.)	15,9±1,7	10,6±1,3*	11,6±1,2*	10,4±1,2*	16,8±1,8 **/***
ФЧ (усл. ед. флюоресц)	5,1±0,7	4,3±0,6	4,9±0,8	4,2±0,6	5,9±0,5**
G-CSF (пг/мл)	13,5±2,8	21,8±3,0*	19,2±2,7	22,4±3,1*	13,9±2,9**
ИЛ-1 пкг/мл	321,2±41,8	753,7±96,1*	514,3±68,4 */**	758,5±95,2*	306,7±75,1 **/***

Примечания: \* достоверность различий с контролем

\*\* достоверность различий с группой до лечения

\*\*\* достоверность различий между двумя группами после лечения

После проведенного лечения обострения хронического ПН и ФЗ у беременных снизился уровень IgM ( $p < 0,05$ ), достоверно приближаясь к контролю в обеих группах. В то время как аналогичная нормализация IgG была зарегистрирована только во II группе беременных (получавших лактулозу), в I группе данный показатель, достоверно снижаясь ( $p < 0,05$ ), все же продолжал отличаться от контроля ( $p < 0,05$ ).

Известно, что антитела классов М и G участвуют в протективном иммунитете, являясь ответом на ЭА, которая развивается как при обострении хронического ПН, вызванного КП, так и при нарушении эвакуаторной функции толстой кишки. Согласно литературным данным в период гестации наступает супрессия специфического звена иммунной системы, поскольку активация приобретенного иммунитета может неблагоприятно сказаться на развитии плода и привести к нежелательным исходам беременности [3]. Классическое лечение обострения хронического ПН, протекающего на фоне ФЗ, в большинстве случаев уменьшает активацию специфического иммунитета, максимально приближая показатели IgM к таковым у здоровых беременных. Однако при этом не устраняется повышение IgG, которое само по себе более значительно в сравнении с ростом IgM при данной нозологии. По всей видимости, это связано с хроническим течением заболевания и, соответственно, более глубокими изменениями системы приобретенного иммунитета, проявляю-

щимися гиперпродукцией антител именно этого класса. Также необходимо помнить о большей продолжительности жизни IgG (около 20 суток) по сравнению с другими классами антител (от 2 до 10 суток), что возможно снижает скорость нормализации данного показателя. И только использование лактулозы в комплексе лечения позволяет снизить уровень IgG до значений здоровых беременных.

Сывороточный IgA после курса классического лечения ПН продолжал оставаться сниженным ( $p < 0,05$ ), однако у больных, получавших лактулозу, данный показатель достоверно возвращался к уровню контроля. Снижение в сыворотке крови IgA может указывать на так называемый «эффект потребления», возникающий вследствие повышенного синтеза секреторного компонента данного иммуноглобулина в просвет кишечника при обострении ПН, протекающего на фоне ФЗ. Это может развиваться в ответ на повышение уровня эндотоксина кишечной палочки в содержимом кишечника. Применение лактулозы нормализует уровень сывороточного IgA, что косвенно может указывать на снижение уровня ЭА в организме исследуемых пациенток.

Интересны данные, полученные при изучении уровня экспрессии ЛПССР ГиМПК после проведенного лечения. В обеих группах этот показатель снизился, достоверно не отличаясь от группы контроля. Однако исключительно у беременных II группы (получавших лактулозу) он отличался от показателей, полученных до лечения ( $p < 0,01$ ), а также от показателей беременных I группы после проведенного лечения ( $p < 0,05$ ).

Гранулоциты человека представляют важную эндотоксинсвязывающую систему, участву-

ющую в сложных процессах иммобилизации, транспорта и выведения ЛПС из организма. Согласно данным ряда авторов количество рецепторов к ЛПС *E.Coli*, экспрессированных ГиМПК, прямо пропорционально уровню системной эндотоксинемии [1, 10]. В связи с этим можно говорить о положительном влиянии лактулозы на данное звено иммунитета, которое проявляется более значительным уменьшением экспрессии рецепторов к ЛПС ГиМПК по сравнению с беременными, получавшими традиционное лечение ПН, и косвенно указывает на снижение уровня эндотоксина в крови.

Показатели, характеризующие фагоцитарную активность клеток периферической крови, после лечения изменились следующим образом. ФИ возрос до уровня контроля, достоверно отличаясь как от показателей, полученных до лечения ( $p < 0,01$ ), так и от значений такового после лечения в I группе ( $p < 0,05$ ). Что же касается ФЧ, то его изменения были минимальны и не отличались от контроля в обеих группах, однако выявлено достоверное повышение данного показателя у беременных II группы по сравнению с показателями до лечения ( $p < 0,05$ ).

Многими авторами обнаружены признаки усиления фагоцитоза во время беременности [3], как проявление активации системы естественного (неспецифического, врожденного) иммунитета, развивающейся в ответ на супрессию специфического звена иммунного ответа матери в этот период. Также из литературных источников известно о способности ЛПС активировать фагоцитирующие клетки. Однако стимулирующим действием обладают лишь низкие дозы ЭТ, тогда как более высокие, напротив, блокируют их основные функции. Гиперпродукция цитокинов и медиаторный хаос, возникающие как следствие ЭА, сменяются глубокой депрессией системы фиксированных макрофагов, включая угнетение синтетической и секреторной функции клеток-мишеней [12]. В настоящем исследовании подтверждаются вышеописанные факты: после проведенного лечения, даже клинически успешного, у беременных I группы не происходит нормализации фагоцитарной функции клеток крови, проявляющейся снижением ФИ. В то время как при включении в схему лечения лактулозы у пациенток II группы отмечается достоверное повышение указанного показателя в комплексе с ростом ФЧ, что говорит об активации процессов фагоцитоза под воздействием данного препарата.

Изначально повышенные ИЛ-1 $\alpha$  и G-CSF после проведенного лечения также претерпели определенные изменения. Так, уровень ИЛ-1 $\alpha$  снизился в обеих группах ( $p < 0,05$  в I и  $p < 0,01$  во II). Однако лишь в группе беременных, получавших лактулозу, указанный показатель достиг уровня контроля, а также достоверно отличался

от данных, полученных после лечения в I группе ( $p < 0,05$ ). В то время как повышенный до лечения уровень G-CSF вернулся к контрольным показателям после проведенной терапии в обеих группах, но достоверно отличался от показателей, полученных до лечения, лишь в группе больных, пролеченных лактулозой ( $p < 0,05$ ).

Известно, что центральным медиатором локальных и системных воспалительных реакций является ИЛ-1. Повышенная секреция ИЛ-1 способна активировать каскад ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ , ИЛ-2, ИЛ-12 и стимулировать выработку G-CSF, который многие авторы также относят к провоспалительным цитокинам. Рост уровня G-CSF приводит к активации дифференцировки гемопоэтических клеток-предшественников в нейтрофилы, а активация вышеописанной цепочки цитокинов может запустить развитие различных осложнений гестационного периода [3, 10]. При обострении хронического ПН в совокупности с ФЗ наблюдается повышение уровня G-CSF, а также рост значений ИЛ-1 $\alpha$  более чем в 2 раза. После классического лечения отмечается снижение данных показателей, однако в случае ИЛ-1 сохраняется достоверная разница с контролем. Использование лактулозы в дополнение к стандартной терапии способствует полному приближению как уровня ИЛ-1 $\alpha$ , так и G-CSF к таковому у здоровых беременных, что свидетельствует о благоприятном влиянии данного препарата на систему воспалительного ответа в период гестации.

## ВЫВОДЫ

У беременных с обострением хронического пиелонефрита, протекающего на фоне функционального запора, выявлены нарушения антиэндотоксинового иммунитета: повышение уровня иммуноглобулинов классов M и G к липополисахаридам кишечной палочки и также экспрессии липополисахаридсвязывающих рецепторов гранулоцитами и моноцитами периферической крови в совокупности со снижением сывороточной фракции антиэндотоксинового IgA и фагоцитарного индекса, которые сопровождаются ростом провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\alpha$  и G-CSF.

Использование пребиотика лактулозы в комплексном лечении обострения хронического пиелонефрита у беременных с функциональным запором ведет к нормализации указанных показателей антиэндотоксинового иммунитета, а также к повышению фагоцитарной активности гранулоцитов периферической крови, как фактора неспецифической защиты, при достоверно скорейшем снижении активности воспалительных реакций.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Антиэндотоксиновое направление в лечении хронического воспаления и женского бесплодия. /

- Энукидзе Г.Г., Аниховская И.А., Марачев А.А., Яковлев М.Ю. – М.: Медицина, 2007. – 236 с.
- Бурков С.Г. Запоры беременных: взгляд на проблему // РМЖ (прил. Болезни органов пищеварения). – 2006. – Т. 8. – №1. – С.28-31.
  - Гузов И.И. Иммунобиология и иммунопатология беременности. // Новости прикл. иммунологии и аллергологии. – 2003 - №7 – С.3-6.
  - Крутиков Е.С. Взаимосвязь функциональных запоров с частотой и характером течения пиелонефритов у беременных / Е.С. Крутиков, В.А. Белоглазов, С.Л. Окладникова // Украинський журнал нефрології та діалізу. - 2011.-№4.- С.32-35.
  - Патент 70193А Україна, МПК 7 А61К31/01. Спосіб визначення антитіл до ліпополісахаридів грамнегативних бактерій. / Гордієнко А.І., Білоглазов В.О. – № 20031212876; заявл. 2003.12.29; опубл. 2004.09.15.
  - Сергиенко Е.И. Функциональные расстройства кишечника: диагностика с позиций III Римского консенсуса. // Гастроэнтерология (тематический номер) / Практикующему гастроэнтерологу. – 2009. – С. 294.
  - Синякова Л.А. Инфекции мочевых путей у беременных. Современные подходы к лечению. / Л.А. Синякова, И.В. Косова // Эффективная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии. - 2008. - № 1 - С. 46.
  - Христич Т.Н. Кишечная микрофлора: роль в клиническом течении ряда заболеваний внутренних органов / Т.Н. Христич // Новости медицины и фармации. – 2009. – 304. – С. 56-58.
  - Шифрин О.С. Лактулоза в лечении функциональных запоров / О.С. Шифрин // Русский медицинский журнал. Болезни органов пищеварения – 2010. – № 13(18). – С. 834-838.
  - Andreasen A.S. Human endotoxemia as a model of systemic inflammation / A.S. Andreasen, K.S. Krabbe, R. Krogh-Madsen [et al.] // Current Medicinal Chemistry. – 2008. – 15. – P.1697-1705.
  - McGready R. Diagnostic and treatment difficulties of pyelonephritis in pregnancy in resource-limited settings / R. McGready, V. Wuthiekanun, E.A. Ashley [et al.] // Am. J. Trop. Med. Hyg. – 2010 – 83(6). – P. 1322-9.
  - Sander H.D. Lipopolysaccharide recognition, internalisation, signalling and other cellular effects. / H. Sander // Journ.of Endotoxin Research – 2001. – Vol.7. – N5. – P.335–348.
- Надійшла до редакції 19.04.2012  
Прийнята до друку 04.05.2012

© Степанова Н.М., Король Л.В., Кундін В.Ю., Мигаль Л.Я., Романенко О.А., 2012

УДК: 577.152.1:616.61

СТЕПАНОВА Н.М.<sup>1</sup>, КОРОЛЬ Л.В.<sup>1</sup>, КУНДІН В.Ю.<sup>2</sup>, МИГАЛЬ Л.Я.<sup>1</sup>, РОМАНЕНКО О.А.<sup>1</sup>

## ОКСИДАТИВНІ ПРОЦЕСИ У ХВОРИХ НА ПІЄЛОНЕФРИТ З РЕЦИДИВУЮЧИМ ПЕРЕБІГОМ ТА ЇХ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК З ВОГНИЩАМИ СКЛЕРОЗУ НИРКОВОЇ ПАРЕНХІМИ

N. STEPANOVA<sup>1</sup>, L. KOROL<sup>1</sup>, V. KUNDIN<sup>2</sup>, L. MIGAL<sup>1</sup>, O. ROMANENKO<sup>1</sup>

### OXIDATIVE PROCESS IN PATIENTS WITH RECURRENT PYELONEPHRITIS AND RELATIONSHIP WITH RENAL SCARRING

<sup>1</sup>ДУ «Інститут нефрології НАМН України»

<sup>2</sup>Київська міська клінічна лікарня «Київський міський центр серця»

**Ключові слова:** хронічний пієлонефрит, оксидативні процеси, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантний захист, «рубці» ниркової паренхіми.

**Резюме:** метою роботи було проаналізувати інтенсивність оксидативних процесів у хворих на пієлонефрит з рецидивуючим перебігом та визначити взаємозв'язок оксидантно/антиоксидантних (О/А) показників з вогнищами склерозу ниркової паренхіми.

**Матеріал та методи дослідження.** Обстежено 117 жінок з хронічним пієлонефритом та 30 умовно здорових осіб, у яких вивчали показники оксидантно/антиоксидантного балансу крові. Крім того, всім пацієнткам було виконано статичну реносцинтиграфію з <sup>99m</sup>Tc – ДМСО.

**Результати дослідження.** Для всіх пацієнток з пієлонефритом, у порівнянні з показниками умовно здорових донорів, було характерне зростання продукції малонового діальдегіду (МДА) як у сироватці крові, так і в еритроцитах на фоні зниження сумарної пероксидазної активності (СПА) та трансферину (ТР) (3,4±0,9 та 5,2±1,0 відповідно; p<0,001). У хворих з рецидивуючим перебігом пієлонефриту було визначено найвищий рівень МДА у сироватці (p=0,01) та зниження вмісту білків-антиоксидантів ТР (p=0,02) і церулоплазміну (ЦП) (p=0,03). Встановлено достовірний зворотній кореляційний зв'язок між кількістю рецидивів

Степанова Наталя Михайлівна

тел.: (0 44) 455 93 86