

## СОСТОЯНИЕ ФЕРРОКИНЕТИКИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПИЕЛОНЕФРИТЕ НА ФОНЕ БАКТЕРИУРИИ

Приходько М. А., Гладилин Г. П., Сенотова М. В.

ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского»  
Минздравсоцразвития России, Саратов, Россия (410012, Саратов, ул. Большая Казачья, 112), e-mail:  
[meduniv@sgmu.ru](mailto:meduniv@sgmu.ru)

Целью настоящего исследования явилось изучение микробиологического пейзажа мочи у больных хроническим пиелонефритом без нарушения функции почек и определение показателей эритропоэза, иммуногенеза и обмена железа на фоне бактериурии различной степени. Обследовано 139 пациентов с хроническим пиелонефритом. В 73,4 % (102) случаев из мочи выделены микроорганизмы. На фоне бактериурии отмечалось достоверно значимое повышение ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ) уровня цитокинов, гепсидина, ферритина, снижение ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ) железа сыворотки и гемоглобина в сравнении с группой пациентов без бактериурии (статистическую значимость различий оценивали при помощи U-критерия Манна – Уитни). Таким образом, при хроническом пиелонефрите, в ответ на внедрение бактериальных агентов, создаются условия для развития анемии.

Ключевые слова: хронический пиелонефрит, бактериурия, цитокины, гепсидин.

## THE STATE OF FERROKINETIKS AT CHRONIC PYELONEPHRITIS AGAINST A BAKTERIURIYA

Prikhodko M. A., Gladilin G. P., Senotova M. V.

Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky, Saratov, Russia (410012, Saratov, street B.Kazachya, 112), e-mail: [meduniv@sgmu.ru](mailto:meduniv@sgmu.ru)

The purpose of this research was to investigate the microbiological landscape of urine in patients with chronic pyelonephritis without compromising renal function and the measurement of erythropoiesis and iron metabolism, immunogenesis against the background of bacteriuria varying degrees. A total of 139 patients with chronic pyelonephritis. In 73.4% (102) cases were isolated microorganisms from urine. Against the background of bacteriuria was significantly noted a significant increase ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ) levels of cytokines, hepsidin, ferritin, decreased ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ), serum iron and hemoglobin in comparison with patients without bacteriuria (the statistical significance of differences was assessed using U-Mann-Whitney test). Thus, chronic pyelonephritis, in response to the introduction of bacterial agents, the conditions for the development of anemia are created.

Key words: chronic pyelonephritis, bacteriuria, cytokines, hepsidin.

### Введение

На фоне неспецифического инфекционно-воспалительного процесса происходит накопление бактериальных липополисахаридов (ЛПС), цитокинов и свободных радикалов, оказывающих как прямое, так и опосредованное воздействие на гомеостаз железа, процессы эритропоэза и продукцию эритропоэтина, создавая тем самым условия для развития анемии хронических заболеваний [3].

Гепсидин – гормоноподобный пептид, регулирующий обмен железа, впервые был обнаружен и описан в 2001 году как антибактериальный пептид, способный повреждать мембрану бактерий. Впоследствии установлено, что гепсидин, являясь отрицательным регулятором абсорбции железа в кишечнике и его мобилизации из депо, оказывает тем самым основной биологический эффект, направленный на снижение железа в циркуляции [10]. Один из механизмов, приводящий к увеличению синтеза гепсидина и не зависящий от

концентрации железа и активности эритропоэза, связан с воспалением и инфекцией. Бактериальные ЛПС и цитокины, воздействуя на синтез гепсидина, создают условия для перераспределения железа из циркуляции в депо и ограничения его доступности для микроорганизмов [5].

Пиелонефрит – неспецифический инфекционно-воспалительный процесс в тубулоинтестициальной зоне и чашечно-лоханочной системе почки. В этиологической структуре заболевания преобладают грамотрицательные бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, имеющие общую структурную мембранную единицу в виде ЛПС, являющихся мощным активатором синтеза провоспалительных цитокинов [7]. Грамположительные микроорганизмы также имеют биологически активные молекулы клеточной стенки в виде пептидогликана, липотейхоевой кислоты, липопептидов, инициирующих воспалительный ответ и выработку цитокинов макрофагами [1]. Пиелонефрит сопровождается выраженными нарушениями цитокиновой сети и всех звеньев клеточного и гуморального иммунитета, что рассматривается как одно из условий персистенции бактерий и хронизации заболевания [7]. При этом цитокиновая активация синтеза гепсидина и накопление железа в энтероцитах, макрофагах и гепатоцитах при бактериальных инфекциях может привести к развитию анемии [5]. Хронизация воспаления, в свою очередь, способствует формированию и закреплению порочного круга дисрегуляции обмена железа и утяжелению анемии [6]. Изучение метаболизма железа при хроническом пиелонефрите (ХрПН) с использованием современных лабораторных тестов представляет особый интерес, поскольку анемия при этом заболевании может развиваться на фоне достаточной функции почек и свидетельствовать о тяжести процесса [8].

#### Цель работы

Оценка микробиологического пейзажа мочи у больных ХрПН и изменений показателей иммуногенеза и обмена железа при бактериурии.

#### Материалы и методы

Нами обследовано 139 больных ХрПН, с длительностью заболевания от 1 года до 5 лет, без нарушения функции почек, в возрасте от 20 до 45 лет, средний возраст составил 34,4(5,1) года. Из них 78 пациентов (56,1 %) находились в фазе активного воспаления, 61 (43,9 %) – в фазе ремиссии. Основная масса пациентов была представлена женщинами – 104 человека (74,8 %), мужчин – 35 (25,2 %).

Обследование пациентов в фазе обострения заболевания проводилось в стационаре НУЗ «Дорожная клиническая больница на станции Саратов-2 ОАО «РЖД», в фазе ремиссии – в условиях поликлиники № 1 указанного лечебного учреждения, при посещении пациентами врача-терапевта с целью диспансерного наблюдения.

Критериями исключения явились: уролитиаз, ХПН, сахарный диабет, обострение сопутствующих хронических заболеваний внутренних органов, злокачественные новообразования, беременность.

Диагноз ХрПН, фаза заболевания, локализация, активность воспалительного процесса, функциональное состояние почек были верифицированы клиницистами, в соответствии с классификацией Н. А. Лопаткина, на основании общепринятых методов клинического обследования, включающие в себя анализ жалоб и анамнестических данных, проведение физикального, клинико-лабораторного и инструментальных (ультразвукового и рентгенологического) обследований.

Всем пациентам проведен комплекс специальных лабораторных исследований, направленный на оценку состояния эритропоэза – общий анализ крови; иммуногенеза – ИЛ-6,  $\alpha$ -ФНО; феррокинетики – сывороточное железо (СЖ), ОЖСС, НТЖ, гепсидин (Гп). Бактериологическое исследование мочи и количественное определение степени бактериурии (числа микробных клеток в 1 мл мочи – КОЭ/мл) проводилось методом посева серийных разведений мочи на плотные питательные среды (5 % кровяной агар и агар хромогенный для уропатогенных бактерий, производства «Conda», Испания) в чашках Петри.

Общий анализ крови выполняли при помощи гематологического автоматического анализатора марки КХ-21N (SYSMEX, Япония). Динамика биохимических показателей оценивалась с помощью программируемого фотометра марки CLIMA MC-15 (PALL, Испания), с использованием специальных наборов реагентов. Иммуноферментный анализ (ИФА) проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе марки Alisei Q.S. (SEAC, Италия), с использованием тест-систем производства ООО «Компания АлкорБио», г. Санкт-Петербург и ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск. Для определения гепсидина в сыворотке крови использовали специальный набор без экстракции (Hepsidin-25 human), разработанный группой компаний «ВСМ», США, Cat. No. S-1337, для анализа образцов человеческой или крысиной сыворотки.

Статистическую обработку данных осуществляли на персональном компьютере с использованием программы Statistika 6.0. Проводилось предварительное тестирование количественных данных на нормальность распределения с помощью критериев Колмогорова – Смирнова, асимметрии и эксцесса. Ассиметрично распределенные вариационные ряды описывали при помощи медианы (Me) и интерквартильной широты (интервал значений между 25-м и 75-м перцентилем распределения). При анализе непрерывных данных двух независимых выборок использовался непараметрический U-критерий Манна – Уитни [2]. Различие считалось достоверным при двустороннем уровне значимости  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ .

Результаты и обсуждения

Среди обследованных больных ХрПН бактериурия отмечалась у 73,4 % (102/139). В 26,6 % (37/139) случаев посев мочи роста не дал. В период обострения заболевания бактериурия наблюдалась у 82,1 % (64/78) больных, в 17,9 % (14/78) случаев возбудитель ИМП обнаружен не был. В период ремиссии – микроорганизмы были выделены из мочи в 62,3 % (38/61) случаев, у 37,7 % (23/61) пациентов моча оставалась стерильной.

Из мочи от 102 пациентов выделены 116 штаммов различных микроорганизмов, причем в 86,3 % (88/102) случаев высевался один возбудитель, в 13,7 % (14/102) наблюдались микробные ассоциации. С большей частотой регистрировалось сочетание *E.coli* и *Enterococcus spp.* – 43 % (6/14).

Основную долю среди выделенных микроорганизмов занимали грамотрицательные бактерии – 59,5 % (69/116), из них в основном *E. Coli* – 74 % (51/69), что подтверждает этиологическую значимость кишечной палочки для ИМП. *Proteus mirabilis* высевался в 10,3 % (12/116) случаев, и незначительная часть грамотрицательных бактерий была представлена *Enterobacter spp.* и *Ps.aeruginosae* – по 2,6 % (3/116) соответственно. Грампозитивная флора высевалась в 37 % (43/116) случаев, в том числе *Enterococcus spp.* 19 % (22/116), *St. epiderm.* 8,6 % (10/116), *St.aureus* 4,3(5/116), *Streptococcus spp.* 4,3 % (5/116), *Corynebacterium spp.* 0,9 % (1/116), что соответствует современным данным об увеличении роли грампозитивной микрофлоры в генезе ИМП [9]. В 3,5 % (4/116) случаев микрофлора мочи была представлена грибами рода *Candida*, что также не противоречит данным аналогичных исследований и указывает на рост грибковых инфекций мочевыводящих путей [4].

Таким образом, микрофлора, выделенная нами в результате микробиологического исследования мочи больных ХрПН, отличается достаточным разнообразием аэробных бактерий и во многом согласуется с данными результатов подобных исследований [9].

По результатам определения степени бактериурии больные были распределены на пять групп. Первая группа 26,6 % (37/139) – это пациенты, у которых в моче не наблюдалось роста микрофлоры (контрольная группа). Вторая 20,7 % (29/139) – с бактериурией  $10^3$  КОЭ/мл, третья 15,8 % (22/139) – с  $10^4$  КОЭ/мл, четвертая 18,7 % (26/139) – с  $10^5$  КОЭ/мл, пятая 18,2 % (25/139) – с  $10^6$  КОЭ/мл.

Всем пациентам выполнены специальные исследования и определены статистически значимые различия показателей для каждой группы с бактериурией, в сравнении с группой пациентов без бактериурии.

Характер распределения, полученных нами данных, явился определяющим фактором при выборе и использовании вида средней и показателя разброса.

В таблице 1 приведены результаты специальных исследований, выполненных для 139 больных ХрПН.

Таблица 1. Показатели эритропоеза, иммуногенеза и феррокинетики у больных ХрПН на фоне бактериурии различной степени, Ме (25-й;75-й процентиля)

Показатель	Роста нет (контрольная группа) (n=37)	Бактериурия 10 <sup>3</sup> КОЭ/мл (n=29)	Бактериурия 10 <sup>4</sup> КОЭ/мл (n=22)	Бактериурия 10 <sup>5</sup> КОЭ/мл (n=26)	Бактериурия 10 <sup>6</sup> КОЭ/мл (n=25)
HGB, г/л	133 (127;144)	130 (121;137) *	126 (118;139) *	125 (115;139) *	123 (113;136)**
WBC, x10 <sup>9</sup> /л	6,0 (5,5;7,2)	6,9 (5,6;8,9) *	7,1 (5,2;8,9)*	7,6 (5,6;8,5) *	8,7 (8,0;9,7) *
СЖ, мкмоль/л	18,6(15,2;20,2)	12,4 (10,8;14,6)**	11,5 (8,8;15,1) **	10,2 (8,9;13,2)**	9,9 (7,7;16,2)**
ОЖСС, мкмоль/л	56,2 (47,7;61,2)	49,7.(42,3;55,1) **	47,1(36,2;52,3)**	47,4 (42,3;52,1)**	47,5 (39,9;56,2)**
НТЖ, %	32,4 (28,9;36,5)	24,6 (22,6;30,1) **	26,3 (22,8;33,3)**	21,8 (19,3;31,0)**	24,3 (17,7;29,3)**
ИЛ-6, пг/мл	5,3 (2,5;8,1)	9,9 (5,6;42,3)*	19,2 (5,2;80,9)**	23,7 (5,5;114,2)**	24,7(5,8;110,2)**
α-ФНО,пг/мл	5,6 (3,1;12,2)	8,9 (5,7;20,8)*	13,6 (6,8;86,9)**	29,8 (5,8;119,5)**	48,2 (6,8;122)**
Гп,пг/мл	190 (120;245)	280 (232;482)*	364 (200;460)**	389 (260;500)**	412 (245;480)**

Примечание – уровень значимости – \* p<0,05, \*\* p<0,01 по сравнению с контрольной группой, двусторонний непараметрический U-критерий Манна – Уитни.

ИЛ-6 и α-ФНО являются главными провоспалительными цитокинами, которые продуцируются в ответ на бактериальную инфекцию [7]. У больных ХрПН на фоне микробной колонизации почечной ткани и выраженного воспалительного процесса (повышенное количество лейкоцитов, p<0,05) наблюдается достоверно значимое повышение указанных цитокинов (p<0,05, p<0,01) по сравнению с группой пациентов, не имеющих бактериурию.

Уровень гепсидина изменяется параллельно колебаниям значений цитокинов – достоверно увеличивается (p<0,05, p<0,01) у больных с бактериурией, достигая максимальных значений в группе пациентов с бактериурией 10<sup>5</sup> – 10<sup>6</sup> КОЭ/мл. Гепсидин, как отрицательный регулятор обмена железа, увеличиваясь, приводит к уменьшению всасывания железа в кишечнике и, следовательно, способствует снижению концентрации гемоглобина [5]. У пациентов на фоне бактериурии различной степени отмечается достоверное снижение (p<0,05, p<0,01) биохимических маркеров феррокинетики – СЖ, ОЖСС, НТЖ и гемоглобина в сравнении с контрольной группой пациентов без бактериурии.

#### Выводы

Таким образом, обнаруженные нами изменения в уровне основных провоспалительных цитокинов, гепсидина, сывороточного железа и гемоглобина у больных ХрПН с сохраненной функцией почек свидетельствуют о нарушении регуляции

иммуногенеза, гемопоэза и феррокинетики в ответ на внедрение бактериальных патогенов.

### Список литературы

1. Авдеева М. Г. Молекулярные механизмы развития инфекционного процесса / М. Г. Авдеева, В. В. Лебедев, М. Г. Шубич // Клиническая лабораторная диагностика. – 2007. – №4. – С. 15-21.
2. Гмурман В. Е. Теория вероятностей и математическая статистика: Учебное пособие для вузов. – 9-е изд. – М.: Высшая школа, 2003. – 479 с.
3. Демихов В. Г. Роль гепсидина в патогенезе анемии хронических заболеваний / В. Г. Демихов, Е. Ф. Морщакова, А. Д. Павлов // Гематология и трансфузиология. – 2006. – Т. 51. № 5. – С. 31-34.
4. Истомина А. С. Инфекция мочевыводящих путей – современный взгляд на проблему / А. С. Истомина, Т. В. Жданова, А. В. Назаров // Уральский медицинский журнал. – 2008. – Т. 54. – №14. – С. 50-54.
5. Кунцевич Н. В. Гепсидин – гормон, регулирующий обмен железа / Н. В. Кунцевич, О. П. Шевченко // Лаборатория. – 2010. – № 3. – С. 8–10.
6. Маянский Н. А. Гепсидин: основной регулятор обмена железа и новый диагностический маркер / Н. А. Маянский, Е. Л. Семикина // Вопр. диагностики в педиатрии. – 2009. – Т. 1. – № 1. – С. 18–23.
7. Нуртдинова Г. М. Уровни провоспалительных цитокинов у больных хроническим пиелонефритом и их изменения при комплексной терапии с применением иммуномодулятора – ликопида : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.05, 14.00.36 / Гузель Масхутовна Нуртдинова; Башкирский государственный медицинский университет. – Уфа, 2003. – 123 с.: ил. – Библиогр.: С.97-123 (251 назв.).
8. Сарычева Т. Г. Эритроциты и почечная патология / Т. Г. Сарычева, Г. И. Козинец // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001. – № 6. – С. 20-23.
9. Характеристика бактериурии у больных с инфекцией мочевыводящих путей, жителей различных регионов / Ю.В. Корочкина [и др.]. // Уральский медицинский журнал. – 2008. – Т.54. – №14. – С. 47-49.
10. Цветаева Н.В. Основы регуляции обмена железа / Н. В. Цветаева, А. А. Левина, Ю. И. Мамукова // Клиническая онкогематология. Фундаментальные исслед. и клиническая практика. – 2010. – Т. 3. – № 3. – С. 278–283.

**Рецензенты:**

Пучиньян Д. М., д.м.н., профессор, заместитель директора по науке ФГУ «Саратовский НИИ травматологии и ортопедии» Минздравсоцразвития РФ, г. Саратов.

Луцевич И. Н., д.м.н., профессор, зав.кафедрой гигиены медико-профилактического факультета «Саратовского ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздравсоцразвития РФ, г. Саратов.