

## СТИМУЛИРОВАННАЯ ТЕТРАЗОЛИЕВАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ, ОСЛОЖНЕННЫМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНИЕЙ

Аттаева М.Ж., Гурижева М.В., Василенко В.М.

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова», Нальчик, e-mail: m.attaeva@yandex.ru*

В статье рассмотрены показатели стимулированной тетразолиевой активности нейтрофилов у больных хроническим пиелонефритом и артериальной гипертензией. Состояние функционально-метаболической активности лейкоцитов при артериальной гипертензии на фоне хронического пиелонефрита сопровождается повышенными значениями теста стимулированного поглощения и восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-теста). В динамике заболевания у больных гипертензивной болезнью отмечено снижение показателей стимулированного НСТ-теста, что свидетельствует об угнетении резервных возможностей нейтрофилов при эссенциальной гипертензии. У больных с почечной артериальной гипертензией в отличие от гипертензивной болезни имеет место значительное повышение показателей тетразолиевой активности нейтрофильных лейкоцитов во все сроки исследования. Выявленные различия показателей стимулированного НСТ-теста при артериальной гипертензии различного генеза могут быть использованы как дополнительные критерии в комплексной дифференциальной диагностике этих заболеваний, для оценки тяжести болезни, а также эффективности проводимой терапии.

Ключевые слова: хронический пиелонефрит, артериальная гипертензия, стимулированная тетразолиевая активность, нейтрофилы.

## STIMULATED TETRAZOLIC ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN PATIENTS WITH CHRONIC PYELONEPHRITIS, COMPLICATED BY ARTERIAL HYPERTENSION

Attaeva M.Z., Gurizheva M.V., Vasilenko V.M.

*Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "Kabardino-Balkaria State University named after Kh.M. Berbekova», Nalchik, e-mail: m.attaeva@yandex.ru*

The parameters of stimulated tetrazolium activity of neutrophils in patients with chronic pyelonephritis and arterial hypertension are considered in the article. The state of functional and metabolic activity of leukocytes in chronic pyelonephritis, complicated by arterial hypertension, is accompanied by elevated values of the stimulated NBT-test. In the dynamics of the disease in patients with essential hypertension, there was a decrease in the indices of the stimulated NBT-test, which indicates the tension of the reserve capacity of leukocytes in essential hypertension. In patients with renal arterial hypertension, in contrast to hypertensive disease, there is a significant increase in the tetrazolium activity of neutrophilic leukocytes at all times of the study. The revealed differences in the indices of the stimulated NBT-test with arterial hypertension of various genesis can be used as additional criteria in the complex differential diagnosis of these diseases, for assessing the severity of the disease, and also the effectiveness of the therapy.

Keywords: chronic pyelonephritis, arterial hypertension, stimulated tetrazolium activity, neutrophils.

Хронический пиелонефрит (ХП) является одной из актуальных проблем современной медицины вследствие большой распространенности заболевания. ХП, согласно последним данным, признано самым частым заболеванием почек. Количество страдающих ХП составляет до 20 % на 1000 человек со значительным преобладанием женщин над мужчинами [1, 2]. Значение всестороннего изучения ХП определяется, с одной стороны, возрастающей частотой латентных форм заболевания. С другой стороны, в последние годы, несмотря на интенсивную антибактериальную терапию, имеет место тяжелое течение ХП среди молодых пациентов, ранняя инвалидизация и смертность. Артериальная гипертензия

является частым и грозным осложнением ХП. Вместе с тем гипертоническая болезнь (ГБ) – это одно из самых распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы во всем мире. Что и заставляет искать новые подходы к изучению механизмов патогенеза ХП, артериальной гипертензии (АГ), дифференциальной диагностики и контроля эффективности лечения. Одним из таких направлений является изучение активности нейтрофилов у пациентов с ХП и ГБ. Цитохимический спектр нейтрофилов отражает реакцию организма и в связи с этим оказывается полезным для оценки глубины и динамики патологического процесса [2, 3]. Показатели метаболической (фагоцитарной) активности полиморфно-ядерных лейкоцитов могут быть использованы в дифференциальной диагностике различных заболеваний.

**Цель исследования.** Установление закономерностей метаболической (фагоцитарной) активности полиморфно-ядерных лейкоцитов у больных ХП, осложненным артериальной гипертензией, путем оценки параметров стимулированного поглощения и восстановления нитросинеготетразолия (НСТ-теста).

#### **Материал и методы исследования**

Проведено динамическое обследование 47 больных (19 мужчин и 28 женщин) с ХП, осложненным артериальной гипертензией, на базе ГБУЗ «ГКБ № 1» г. Нальчика. Возраст обследованных пациентов с ХП составил от 19 до 68 лет (средний возраст –  $47,5 \pm 5,2$ ). Средняя продолжительность заболевания составила  $11,0 \pm 2,8$  лет. В группу сравнения вошли 46 больных (26 женщин и 20 мужчин) ГБ (I–II стадия). Возраст пациентов с ГБ варьировал от 25 до 67 лет (средний возраст –  $51,4 \pm 4,6$ ). Средняя длительность ГБ составила  $11,6 \pm 4,3$  лет. Контрольная группа (32 практически здоровых человека) сопоставима по возрасту и полу с группами больных. Исследования выполнены в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (с поправками от 2013 г.) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г. Всем больным проведено комплексное лабораторно-инструментальное обследование и лечение в соответствии действующими стандартами диагностики и лечения артериальной гипертензии и ХП. Диагностическими критериями ХП служили асимметрия функций и размеров почек лейкоцитурия, бактериурия, протеинурия, деформация чашечно-лоханочной системы. Артериальная гипертензия диагностировалась при показателях АД равных 140/90 мм рт. ст. и выше. Из исследования исключены больные с явлениями респираторной вирусной инфекции, гипертермией, сердечно-сосудистой недостаточностью, хронической почечной недостаточностью.

Функциональную активность нейтрофильных гранулоцитов оценивали *in vitro* с

информированного согласия всех испытуемых на 1–2-й и 10-й дни лечения с помощью индуцированного НСТ-теста по методике В.И. Покровского и Б.С. Нагоева [3]. Для постановки теста к гепаринизированной крови (0,1 мл гепарина и 0,1 мл капиллярной крови) добавляли в качестве стимуляторов кислородного взрыва 0,1 мл бактериального эндотоксина («Продигиозан» – «Реакомплекс», Россия) или 0,1 мл пирогенала производства «Медгамал» (филиал ГУ НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Россия), а также 0,1 мл 0,1 % раствора нитросинеготетразолия («Sigma», США). Количественная оценка активности НСТ-теста проведена по принципу Karlow (1955 г.). В основе этого метода лежит распределение всех клеточных элементов по степеням в зависимости от интенсивности окраски и количества выявляемого в клетке цитохимически активного вещества [3].

Статистическая обработка результатов проведена с использованием методов параметрической статистики. Достоверность различий количественных показателей между независимыми группами оценивалась с помощью непарного теста Стьюдента и теста ANOVA, между зависимыми группами – с помощью парного теста Стьюдента. Данные приведены в виде минимальных и максимальных значений ( $M_{\min}$ ,  $M_{\max}$ ), среднего значения и ошибки средней ( $M \pm m$ ). Нулевую гипотезу отвергли при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ . Для статистической обработки использованы программы Statistica 7 и Statistica 10 (Stat Soft).

### Результаты исследования и их обсуждение

Цитохимический анализ стимулированной различными препаратами тетразолиевой активности нейтрофильных лейкоцитов у здоровых лиц показал, что бактериальный эндотоксин обладает высоким стимулирующим действием ( $38 \pm 1,4$  усл. ед.). Тетразолиевая активность лейкоцитов, индуцированных пирогеналом, существенно ниже ( $29 \pm 1,7$  усл. ед.) по сравнению с нейтрофилами, стимулированными эндотоксином. Цитохимическое определение показателей стимулированного НСТ-теста проводилось в динамике у 47 больных хроническим пиелонефритом. Сравнительное изучение результатов теста в зависимости от использованного стимулятора (эндотоксин, пирогенал) показало общность изменений цитохимических показателей.

Таблица 1

Стимулированный эндотоксином НСТ-тест у больных хроническим пиелонефритом, осложненным артериальной гипертонией (усл. ед.)

Группа обследованных и день обследования	n	$M_{\min}$ - $M_{\max}$	$M \pm m$	p	p <sub>1</sub>	p <sub>2</sub>
Здоровые	27	19-48	$38 \pm 1,4$			<0,001

Больные ХП	1-2 день	47	34-70	52±2,1	<0,001		<0,001
	10 день	36	38-54	43±1,0	<0,05	<0,01	<0,001

Примечание: n – число обследованных; p – значимость различий от показателей здоровых лиц; p<sub>1</sub> – значимость различий от показателей предыдущего исследования; p<sub>2</sub> – значимость различий от показателей пациентов с ГБ.

При поступлении в стационар у большинства обследованных было выявлено повышение показателей тетразолиевой активности, стимулированных как эндотоксином (таблица 1), так и пирогеналом (таблица 2), нейтрофильных лейкоцитов и процента НСТ-положительных клеток.

Таблица 2

Стимулированный пирогеналом НСТ-тест у больных хроническим пиелонефритом, осложненным артериальной гипертонией (усл. ед.)

Группа обследованных и день обследования		n	M <sub>min</sub> -M <sub>max</sub>	M±m	p	p <sub>1</sub>	p <sub>2</sub>
Здоровые		27	12-46	29±1,7			<0,001
Больные ХП	1-2 день	47	32-68	50±2,1	<0,001		<0,001
	10 день	36	28-46	36±1,1	<0,01	<0,001	<0,001

Примечание: n – число обследованных; p – значимость различий от показателей здоровых лиц; p<sub>1</sub> – значимость различий от показателей предыдущего исследования; p<sub>2</sub> – значимость различий от показателей пациентов с ГБ.

На фоне терапии, параллельно положительной динамике в состоянии больных, отмечалось некоторое снижение активности данного теста. Однако к моменту выписки средний показатель стимулированной тетразолиевой активности нейтрофилов у больных хроническим пиелонефритом существенно отличался от показателей здоровых людей, что свидетельствует о дисбалансе иммунобиологической реактивности у больных ХП.

И в других исследованиях у пациентов с ХП обнаружено ослабление системы неспецифической защиты организма, снижение фагоцитарной и метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов, системы комплемента [4]. В некоторых работах выявлена разница показателей функционально-метаболической активности нейтрофилов при серозной и гнойной формах острого пиелонефрита, что дает возможность использовать цитохимические тесты для их дифференциальной диагностики на стадии постановки диагноза заболевания. Сделан вывод о том, что стандартное лечение не нормализует фагоцитарную и метаболическую активность гранулоцитов периферической крови и нуждается в дополнительном назначении средств и методов иммунокоррекции [5].

Нейтрофильные лейкоциты являются не только передовым барьером антимикробной защиты, но также и высокореперативным звеном внутренней среды организма. Несмотря на

узкую функциональную специализацию, активаторами нейтрофилов могут быть не только вещества микробного происхождения, но и гормоны, медиаторы клеточного распада, иммунные комплексы, то есть реакцию гранулоцитов может вызывать любое изменение внутренней среды [2, 3]. В настоящее время система фагоцитоза нейтрофилов расценивается как один из универсальных эффекторов гомеостаза, а непосредственное уничтожение микробов воспринимается как частный, но очень значимый эпизод этой стратегии [2, 6].

Клиническое значение функционального зондирования полиморфноядерных лейкоцитов необходимо оценивать с двух точек зрения. Во-первых, эти тесты могут быть использованы для определения резервных возможностей иммунитета. Во-вторых, данная информация позволяет оценить глубину и динамику общих нарушений гомеостаза вне связи с природой (инфекционной или неинфекционной) заболевания. При этом первое направление имеет целью выявление эффекторных ресурсов нейтрофилов, а во втором случае нейтрофилы могут быть использованы как непосредственный индикатор патологии [2, 3]. Важность исследования цитохимических показателей полиморфноядерных лейкоцитов при заболеваниях почек отмечена в литературе [5, 7]. Преимуществом НСТ-теста можно считать то, что он отражает итоговую реакцию одной из основных ферментных систем, отвечающих за бактерицидность полиморфноядерных лейкоцитов [6]. Поэтому индуцированный различными препаратами НСТ-тест можно рассматривать как цитохимический показатель готовности нейтрофилов к завершеному фагоцитозу.

Цитохимическое определение параметров стимулированного НСТ-теста также проводилось в динамике у 45 больных ГБ. При этом установлено, что при поступлении в стационар у большинства обследованных пациентов с гипертонической болезнью, в отличие от больных с нефрогенной артериальной гипертензией, имело место существенное снижение тетразолиевой активности полиморфноядерных лейкоцитов как при стимуляции эндотоксином, так и при использовании пирогенала (таблица 3). При этом более выраженное угнетение способности нейтрофилов отвечать на дополнительную стимуляцию отмечалось у больных с более длительной и тяжелой артериальной гипертензией. На фоне терапии отмечалась положительная динамика цитохимических показателей, но нормализация стимулированной тетразолиевой активности нейтрофилов наступала не всегда.

Таблица 3

Стимулированный НСТ-тест у больных гипертонической болезнью (усл. ед.)

Стимулятор и день обследования	N	Тетразолиевая активность (усл. ед.)				
		M <sub>min</sub> -M <sub>max</sub>	M±m	p	p <sub>1</sub>	p <sub>2</sub>
Здоровые (эндотоксин)	27	19-48	38±1,4			<0,001

Эндотоксин	1–2 день	45	11–54	27±0,9	<0,001		<0,001
	10 день	42	14–42	32±0,7	<0,01	>0,05	<0,001
Здоровые (пирогенал)		25	12–46	29±1,7			<0,001
Пирогенал	1–2 день	45	9–54	24±1,1	<0,01		<0,001
	10 день	42	14–44	30±0,9	>0,05	<0,01	<0,001

Примечание: n – число обследованных; p – значимость различий от показателей здоровых лиц; p<sub>1</sub> – значимость различий от показателей предыдущего исследования; p<sub>2</sub> – значимость различий от показателей пациентов с ХП.

Сравнительный анализ показателей стимулированного как эндотоксином, так и пирогеналом НСТ-теста в зависимости от генеза артериальной гипертонии (таблицы 1, 2, 3) выявил, что при нефрогенной артериальной гипертонии в отличие от гипертонической болезни имеет место значительное повышение показателей тетразолиевой активности нейтрофильных лейкоцитов во все сроки исследования. По всей вероятности, это связано с потребностью в активации клеточного иммунитета при бактериальном заболевании.

Как правило, цитохимические изменения при воздействии того или иного фактора внешней среды выявляются раньше, чем структурные повреждения клетки. По существу, ни один из сдвигов внутренней среды не остается без участия нейтрофилов. Высокая скорость обмена нейтрофилов крови придает цитохимическим исследованиям особую информативность, позволяя прицельно наблюдать за динамикой патологического процесса и прогнозировать ее исходы. К достоинствам цитохимических методов также относятся техническая простота, доступность, небольшое количество исследуемого материала.

Низкий уровень стимулированной тетразолиевой активности лейкоцитов у больных ГБ может свидетельствовать о снижении функционального потенциала системы нейтрофильного фагоцитоза, а, следовательно, угнетении защитных механизмов организма при эссенциальной гипертонии. А у больных ХП, вероятно, происходит мобилизация нейтрофильного звена иммунитета для преодоления бактериального воспалительного процесса. Отсутствие нормализации цитохимических параметров может свидетельствовать о хроническом течении заболевания [2]. В последнее время накоплено много сведений о метаболической дисфункции нейтрофильных лейкоцитов, в том числе характеризующейся нарушением процессов поглощения и способности реагировать усилением кислородозависимого метаболизма на дополнительную стимуляцию при различных заболеваниях [8-12].

Изучение цитохимических показателей циркулирующих нейтрофилов у больных в динамике развития процесса имеет не только общетеоретическое, но и клиническое значение. Цитохимические исследования дополняют общеизвестные лабораторные

показатели. Они позволяют оценить состояние неспецифической резистентности организма.

Следует отметить, что оценка функциональной активности нейтрофильных лейкоцитов может быть полезной в дифдиагностике, для определения динамики и прогностических показателей патологического процесса, позволит проанализировать эффективность терапевтического воздействия и степени ремиссии при хронических процессах [2, 3, 6].

Таким образом, наше исследование показало, что у больных хроническим пиелонефритом, осложненным артериальной гипертензией и гипертонической болезнью, происходят значительные нарушения неспецифической резистентности организма, о чем свидетельствуют разнонаправленные изменения показателей стимулированной тетразолиевой активности нейтрофилов. Степень и направленность этих нарушений зависит от генеза артериальной гипертензии, тяжести течения заболевания.

### **Выводы**

1. Метаболическая активность нейтрофильных лейкоцитов при хроническом пиелонефрите, осложненном АГ, характеризуется повышенными показателями стимулированного НСТ-теста, что может отражать активацию нейтрофильного звена иммунитета при бактериальной инфекции.

2. Изменение функции фагоцитоза нейтрофилов в динамике заболевания у больных гипертонической болезнью может проявляться снижением параметров стимулированного НСТ-теста, что может свидетельствовать об угнетении функционального потенциала лейкоцитов при эссенциальной гипертензии.

3. Сохраняющиеся на фоне лечения изменения функционально-метаболической активности полиморфноядерных лейкоцитов у больных ХП и ГБ носят неспецифический характер, являясь объективным показателем состояния общей резистентности организма.

4. Выявленные различия показателей стимулированного НСТ-теста при артериальной гипертензии различного генеза могут быть использованы как дополнительные критерии в комплексной дифференциальной диагностике этих заболеваний.

### **Список литературы**

1. Нефрология: национальное руководство / ред. Н.А. Мухин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 720 с.
2. Аттаева М.Ж. Спонтанная тетразолиевая активность нейтрофилов у больных хроническим пиелонефритом, осложненным артериальной гипертензией / М.Ж. Аттаева, М.В. Гурижева, В.М. Василенко // Успехи современной науки. – 2017. – № 1 (5). – С. 63-66.

3. Покровский В.И. НСТ-тест нейтрофильных лейкоцитов и его клиническое значение / В.И. Покровский, Б.С. Нагоев. – Нальчик: Эльбрус, 1983. – 54 с.
4. Вагапова Д.Р. Особенности клеточного и гуморального иммунитета у больных хроническим пиелонефритом / Д.Р. Вагапова, Г.М. Нуртдинова, С.В. Алонова // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2011. – № 2-1 (35). – С. 112-113.
5. Функционально-метаболическая активность нейтрофилов периферической крови у пациентов с серозным и гнойным пиелонефритом на фоне стандартного лечения / А.И. Конопля [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2016. – № 1. – С. 107-112.
6. Маянский А.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге / А.Н. Маянский, Д.Н. Маянский. – Новосибирск: Наука, 1983. – 256 с.
7. Фагоцитарные нарушения при обструктивном пиелонефрите у детей / М.П. Разин [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2007. – № 1. – С. 113-115.
8. Талаев А.М. Особенности иммунного статуса у беременных с хроническим пиелонефритом / А.М. Талаев, Н.Ю. Сотникова, Е.М. Талаева // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2012. – № 4. – С. 51-54.
9. Черняев А.А. Цитохимическая активность нейтрофилов и моноцитов крови у больных метаболическим синдромом / А.А. Черняев, А.А. Демидов, Е.Н. Чернышева // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1-1.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=18201>.
10. Апоптоз лимфоцитов и гранулоцитов периферической крови при хронических HBV- и HCV-инфекциях / А.О. Буеверов [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2010. – № 6. – С. 33-36.
11. Цитохимическая активность нейтрофилов периферической крови после односторонней нефрэктомии на фоне интоксикации 40 % этанолом с последующей антиоксидантной коррекцией / Т.П. Сатаева [и др.] // Современные научные исследования и инновации. – 2017. – № 2 (70).
12. Afzal M.M., Jeshtadi A., Mohmmmed A.K. Study of neutrophilic function by nitrobluetetrazolium test in septicemias and immune deficiency diseases. Int. J. Res. Health Sci., 2014, vol. 2, no. 2, pp. 581-90.