

М. О. Колесник, Н. М. Степанова, Н. В. Сташевська, В. Є. Дряньська

Державна установа “Інститут нефрології НАМН України”, 04050 Київ

ГІПЕРОКСАЛУРІЯ ТА КОЛОНІЗАЦІЙНА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ КИШЕЧНИКА У ХВОРИХ НА ПІЄЛОНЕФРИТ З РЕЦИДИВУЮЧИМ ПЕРЕБІГОМ

Гіпероксалурия та порушення колонізаційної резистентності кишечника можуть бути тригер-факторами формування рецидивуючого перебігу пієлонефриту. Метою роботи було дослідити колонізаційну резистентність кишечника хворих на пієлонефрит з рецидивуючим перебігом та гіпероксалуриєю. Одномоментно обстежено 64 жінки віком від 18 до 52 років з рецидивуючим перебігом пієлонефриту. Залежно від наявності гіпероксалурії пацієнток було розподілено на дві групи: до I ($n = 35$) включено жінок з гіпероксалуриєю, до II ($n = 29$) увійшли хворі з нормальним рівнем екскреції оксалатів. Групу контролю склали 15 практично здорових донорів. У всіх обстежених хворих жінок виявлені дисбіотичні порушення: у 61 (95,3 %) — зниження кількості індигенної мікрофлори слизової оболонки товстої кишки, а у 20 (31,5 %) пацієнток — контамінація практично патогенними та патогенними мікроорганізмами. У жінок з гіпероксалуриєю відзначено достовірно нижчий рівень біфідо- та лактобактерій. В усіх хворих спостерігалось підвищення синтезу загального *slgA* і антитіл класу *slgA* до ліпополісахариду грамнегативних бактерій у сліні та рівня *MCP-1*, *IL-4*, *IL-17* й *IL-23* у сироватці крові. За наявності гіпероксалурії усі досліджувані показники цитокінової ланки імунітету були достовірно вищими. Отже, стан колонізаційної резистентності товстого кишечника хворих на пієлонефрит з рецидивуючим перебігом характеризується зниженням вмісту індигенної мікрофлори різного ступеня тяжкості, що призводить до зниження імунітету властивостей мікробіоти і може бути однією з причин розвитку рецидивів.

Ключові слова: гіпероксалурия, рецидивуючий перебіг пієлонефриту, колонізаційна резистентність кишечника, мікробіоценоз, цитокіни.

Рецидивування пієлонефриту є важливою медико-соціальною проблемою, вивчення якої поглиблює розуміння патогенезу захворювання. У цьому контексті дані щодо персистенції патогенних бактерій у кишечнику та їх транслокації до органів сечовидільної системи з одночасним оновленням кишкової флори через часте застосування антибіотиків [9, 10, 22, 26] як одного з чинників формування рецидивуючого перебігу пієлонефриту, виглядають обґрунтованими.

Дослідженнями С. А. Czaja та співавт. показано, що 78 % рецидивів інфекції сечової системи були викликані одним і тим же штамом *E. coli*, що

був виділений з фекальної флори обстежених жінок [28]. Це та інші дослідження підкреслюють роль дисбіозу кишечника як тригера рецидивуючого перебігу пієлонефриту [8, 13, 21, 23, 23]. Крім того, постійне застосування антибактеріальних лікарських засобів (у тому числі й довготривала антибіотикопрофілактика у хворих на рецидивуючий пієлонефрит) може порушувати видовий та кількісний склад мікробіоти кишечника та призводити до знищення *O. formigenes* з формуванням гіпероксалурії, що водночас зменшує резистентність до інфікування слизових оболонок сечостатевої системи патогенними мікроорганізмами [19, 24, 27].

М. О. Колесник — директор інституту, чл.-кор. НАМН України

В. Є. Дряньська — заст. директора інституту з наукової роботи, д.м.н., професор

Відділ нефрології та діалізу

Н. М. Степанова — гол.н.с., д.м.н. (nmstep@ukr.net)

Н. В. Сташевська — аспірант

© М. О. Колесник, Н. М. Степанова, Н. В. Сташевська, В. Є. Дряньська, 2016.

Наші попередні дослідження встановили значну поширеність (>80 %) гіпероксалурії у жінок з рецидивуючим перебігом піелонефриту [3, 16]. Логічно було припустити формування так званого замкнутого кола: порушення мікрофлори кишечника та розвиток дисбіозу з одного боку є основним джерелом інфікування сечової системи, з іншого – призводить до порушення транспорту оксалату та набуті гіпероксалурії. Депозиція кристалів у проксимальних ниркових каналцях, у свою чергу, викликає хронічне запалення з формуванням фіброзу [25] та може бути самостійним фактором ризику рецидивуючого перебігу захворювання.

Останні дані свідчать, що мікрофлора кишечника є надзвичайно складною екосистемою. Біомаса мікробів, що заселяють кишечник дорослої людини, становить 2,5-3 кг та містить близько 500 видів бактерій, які взаємодіють між собою і колонізують епітеліальні клітини [9, 21, 24]. Кількісний склад нормальної мікрофлори кишечника подано у табл. 1.

Таблиця 1
Нормальний склад мікрофлори кишечника [12, 19]

Мікроорганізм	КУО/1 г фекалій
<i>Lactobacillus</i>	10 ⁶ -10 ⁹
<i>Bifidobacterium</i>	10 ⁸ -10 ¹⁰
<i>Bacteroides</i>	10 ⁷ -10 ⁹
<i>Clostridium</i>	10 ³ -10 ⁵
<i>Staphylococcus</i>	до 10 ³
<i>Candida albicans</i>	до 10 ³
<i>Enterococcus</i>	10 ⁶ -10 ⁸
<i>Streptococcus</i>	10 ⁵ -10 ⁷

Однією з найважливіших функцій мікробіоти кишечника є забезпечення колонізаційної резистентності у межах шлунково-кишкового тракту (ШКТ) шляхом конкурентного інгібування патогенних штамів. Колонізаційна резистентність реалізується через низку захисних механізмів, які підтримують оптимальний кількісний та якісний склад мікробіоти, навколоепітеліальний слизовий мікробіологічний бар'єр, здатність нормальної мікрофлори прикріплюватись до епітелію кишечника, синтезувати сигнальні і антибіотикоподібні речовини, а також феномен молекулярної мімікрії нормальної мікрофлори [6, 7, 30].

Колонізаційна резистентність є також одним із механізмів мукозального імунітету та визначається станом системної імунної відповіді. Основний внесок імунної системи слизових оболонок ШКТ полягає у впливі на диференціювання *T*-регулюючих клітин (супресорів) у пейерових пляшках. На сьогодні вже є доведеною провідна роль мікробіоти кишечника у підтримці збалансованого статусу

T-регулюючих клітин/*T*-хелперів типу 17 (*T_{reg}/Th17*) [6, 7, 30]. Адже розташовані у епітелії кишечника *T_{reg}*-клітини (*CD4⁺, CD25⁺, Foxp3⁺*) здатні пригнічувати патологічні запальні реакції через інтерлейкін (ІЛ)-10 опосередковані реакції [18]. Різні штами синантропних бактерій та їх метаболіти сприяють збереженню взаємовигідного симбіозу. Так, за допомогою *Bacteroides fragilis*, *Bifidobacterium* та *Firmicutes* відбувається диференціація *T_{reg}* від наївних *Th*, і, як наслідок, зміцнення кишкового бар'єру [6, 18]. Диференціювання *Th17* із наївних *CD4⁺ T*-лімфоцитів відбувається у кілька етапів: під впливом ТФР-β, ІЛ-16 і ІЛ-1 наївні *CD4⁺ T*-лімфоцити перетворюються у клітини попередники *T*-хелперів 17, у подальшому, під впливом ІЛ-23, вони дозрівають у *Th17*, які продукують ІЛ-17 та інші прозапальні цитокіни (ФНП-β, ІЛ-6, ІЛ-8, MCP-1 — *Monocyte Chemoattractant Protein 1*), а також ІЛ-23 [1, 2, 14]. ІЛ-17, у свою чергу, захищає організм від грам-негативних бактерій, а саме *Klebsiella pneumonia*, *Bacteroides fragilis*, *Borrelia burgdorferi*, *Micobacterium tuberculosis* та деяких видів грибів [14, 32].

Отже, сформовані "Інь і Янь" відносини між *T_{reg}* і *Th 17* слугують цінним біомаркером колонізаційної резистентності кишечника, що може бути використано під час визначення необхідності імуномодуючої або мікробно-модуючої терапії [31]. Саме тому дослідження взаємозв'язку мікробіоти кишечника з цією ланкою імунітету у хворих на рецидивуючий піелонефрит з гіпероксалурією є безперечно актуальним.

Разом з цим, визначення стану колонізаційної резистентності кишечника не може обмежуватись лише дослідженням продукції цитокінів. Реальною клінічною значущістю володіє комплекс складових, до якого входять не тільки показники цитокінової ланки імунітету, а й бактеріологічне дослідження мікробіоти кишечника, її метаболічна активність, показники місцевого імунітету, перш за все секреторного імуноглобуліну А (*sIgA*) та продукція ліпополісахаридів (ендотоксинів) [18, 27]. Оцінка даних складових колонізаційної резистентності товстої кишки у хворих на рецидивуючий піелонефрит є актуальною як з погляду поліпшення діагностики, так і з метою корекції гіпероксалурії та зниження частоти рецидивів захворювання.

Метою роботи було дослідити колонізаційну резистентність кишечника хворих на піелонефрит з рецидивуючим перебігом та гіпероксалурією.

Обстежені та методи. Обсерваційне одномоментне дослідження проведено на 64 жінках віком від 18 до 52 років хворих на піелонефрит з рецидивуючим перебігом. Тривалість захворювання па-

цієнток була від півроку до 16 років. Кількість рецидивів на рік у середньому становила $6,4 \pm 1,9$.

Критеріями включення пацієнток до дослідження були: наявність клінічних ознак захворювання (дизурія, часте сечовипускання, підвищення температури тіла, відчуття болю та важкості у крестово-поясній частині та ін.), лейкоцитурія та бактеріурія.

Критеріями виключення були: відмова хворої від участі у дослідженні, вагітність та період лактації, ознаки обструкції сечової системи, зниження швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) <60 мл/хв.

Протокол дослідження був схвалений локальною етичною комісією ДУ “Інститут нефрології НАМН України”.

Залежно від наявності гіпероксалурії (екскреція оксалатів з сечею понад $0,45$ ммоль за добу) [26, 29] пацієнток було розподілено на 2 групи: до I ($n = 35$) включено жінок з гіпероксалурією, до II ($n = 29$) увійшли хворі з нормальним рівнем екскреції оксалатів. Частота рецидивів пієлонефриту протягом року була достовірно вищою у пацієнток I групи — $5,7 \pm 3,7$ проти $3,4 \pm 1,0$ ($P = 0,01$) у пацієнток II групи. Групи були ідентичними за віком хворих, нозологією, етіологічними чинниками захворювання та його тривалістю. Так, хронічний ускладнений пієлонефрит діагностовано у 13 (37 %) пацієнток I групи та у 12 (41 %) жінок II групи ($P = 0,71$). Середній вік жінок I групи становив ($33 \pm 3,9$) років, II групи — ($35,1 \pm 7,8$) років ($P = 0,1$); тривалість захворювання у I групі становила ($5,9 \pm 3,9$) років, а у II групі — ($7,4 \pm 3,0$) років ($P = 0,39$). Групу контролю склали 15 практично здорових донорів.

Стан колонізаційної резистентності кишечника хворих оцінювали шляхом бактеріологічного дослідження кількісного та якісного складу мікробіоти фекалій, визначення у слинні рідни *sIgA* і антитіл класу *sIgA* до ліпополісахариду (ЛПС) грамнегативних бактерій (анти-ЛПС-*sIgA*), а також у сироватці крові рівнів ІЛ-4, -17, -18, -23 та моноцитарного хемотаксичного протеїну-1 (MCP-1 — *Monocyte Chemoattractant Protein-1*).

Культуральне дослідження калу з визначенням кількісного вмісту виділених штамів мікроорганізмів, який виражали у мільйонах колонієутворюючих одиниць в 1 г фекалій (10^6 КУО/г), виконували у лабораторії “Сінево”.

Стан мікробіоценозу кишечника вивчали шляхом кількісного визначення нормальної (індигенної) мікрофлори — біфідум- та лактобактерій, нормальної кишкової палички, а також частоти та колонізації слизової оболонки товстої кишки факультативною, патогенною та практично патогенною мікрофлорою (практично патогенні ентеробактерії, кишкова паличка зі зміненими влас-

твостями, негемолітичні кислотонегативні стафілококи, ентерококи, *Candida* та ін.).

Імунологічні дослідження виконували у лабораторії імунології ДУ “Інститут нефрології НАМН України”. Для визначення *sIgA* та анти-ЛПС-*sIgA* у слинні використовували тест системи і протоколи, розроблені у відділі клінічної імунології ЦНДЛ ДУ “Кримський державний медичний університет ім. С. І. Георгієвського”; в якості антигену використовували комерційний препарат ЛПС *Escherichia coli* K235 (*Sigma Chem. Co*, США).

Дослідження цитокінів проводили за допомогою імуоферментного аналізатора “SunRise TouchScreen”, використовували тест-системи “Diacclone” (Франція), “DRG” (Німеччина), “Вектор Бест” (Росія).

Статистичну обробку даних проводили з урахуванням перевірки показників на нормальний розподіл за тестом Колмогорова — Смірнова. За умов нормального розподілу оцінювали середні значення (M) та середнє квадратичне відхилення (SD); для їх порівняння використовували t -критерій Стьюдента. За невідповідності закону нормального розподілу для опису ознаки застосовували медіану та інтерквартильний розмах (Me [Q25-Q75]); для порівняльного аналізу застосовували непараметричний (U -критерій) Вілкоксона — Манна — Уїтні. Кореляційний аналіз проводили за методом Спірмена (ρ) [5].

Результати та їх обговорення. Культуральне дослідження фекалій хворих на рецидивуючий пієлонефрит виявило дисбіотичні порушення в усіх обстежених жінок, з яких у 61 (95,3 %) спостерігалось зниження кількості індигенної мікрофлори слизової оболонки товстої кишки, а у 20 (31,5 %) пацієнток мала місце контамінація практично патогенними та патогенними мікроорганізмами. В усіх хворих на пієлонефрит з рецидивуючим перебігом виявлено достовірне зниження в калі рівня лактобактерій ($0,27$ [0,1-1,75] 10^6 КУО/г) порівняно з нормою (100 [10-1000] 10^6 КУО/г, $P < 0,0001$) та *E. coli* з нормальними ферментативними властивостями (10 [5-200] проти 100 [10-1000] 10^6 КУО/г, $P = 0,04$). Тоді як рівень біфідобактерій не відрізнявся від нормальних значень (рис. 1).

Надмірну кількість гемолізуючої *E. coli* визначено у 4 (6,3 %) пацієнток. Підвищення вмісту практично патогенних мікроорганізмів діагностовано у 16 (25 %) хворих, а саме: ентеробактерій — у 8 (50 %) жінок, *Candida spp.* — 4 (25 %) та *Klebsiella spp.* — 4 (25 %).

Порівняльний аналіз кількісного та якісного складу мікрофлори товстої кишки хворих на пієлонефрит залежно від наявності гіпероксалурії визначив достовірно нижчий вміст біфідобактерій та лакто-

бактерій у жінок I групи (табл. 2). У хворих із гіпероксалурією достовірно частіше визначалась практично патогенна флора (див. табл. 2), хоча порівняльний аналіз частоти виділення певних мікроорганізмів не виявив відмінностей.

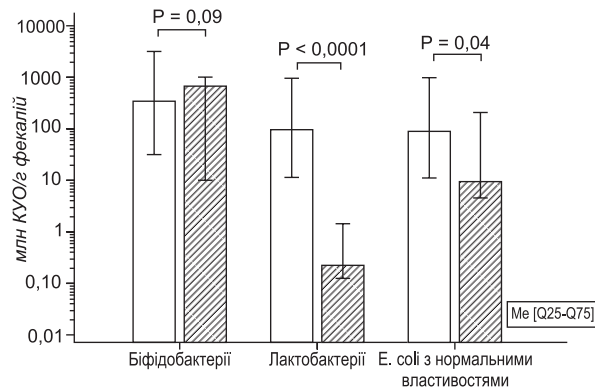


Рис. 1. Рівень індигенної мікрофлори товстого кишечника хворих на піелонефрит з рецидивуючим перебігом (заштриховані стовпчики) у порівнянні з практично здоровими донорами (світлі стовпчики).

Таблиця 2

Кількісний та якісний склад мікробіоти товстої кишки хворих на піелонефрит з рецидивуючим перебігом залежно від наявності гіпероксалурії

Показник	I група (n = 35)	II група (n = 29)
Індигенна мікрофлора, 10^6 КУО/г фекалій (Me [Q25-Q75])		
Біфідобактерії	10 [5-900]	800 [10-1000]*
Лактобактерії	0,14 [0,1-0,5]	4 [0,2-20]**
<i>E. coli</i> з нормальними ферментативними властивостями	10 [4-200]	11 [5-200]
Практично патогенна мікрофлора, абс. кількість осіб, у яких виділено мікроорганізм (%)		
Збільшення кількості ентеробактерій	6 (17,2)	2 (6,9)
Збільшення кількості гемолізуючої <i>E. coli</i>	3 (8,6)	1 (3,5)
Збільшення кількості <i>Candida spp.</i>	2 (5,7)	2 (6,9)
Збільшення кількості <i>Klebsiella spp.</i>	4 (11,4)	0
Загалом	15 (42,8)	5 (17,2)*

Примітки: * — $P < 0,05$, ** — $P < 0,001$ порівняно з I групою.

Крім того, відзначена достовірна негативна кореляція між рівнями добової екскреції оксалатів та лактобактерій у товстому кишечнику ($r = -0,57$; $P < 0,0001$) (рис. 2).

Отже, стан біоценозу товстого кишечника хворих на піелонефрит з рецидивуючим перебігом характеризується зниженням індигенної мікрофлори різного ступеня тяжкості, що призводить до зни-

ження імуногенних властивостей мікробіоти та, у свою чергу, викликає збільшення вмісту представників практично патогенної мікрофлори, зростання загальної кількості *E. coli* зі зміненими властивостями, а також порушує співвідношення мікроорганізмів із груп облігатних та факультативних представників еубіозу. Найбільш виражені порушення (найнижча кількість біфідо- та лактобактерій зі зростанням практично патогенної мікрофлори) діагностуються у хворих з гіпероксалурією.

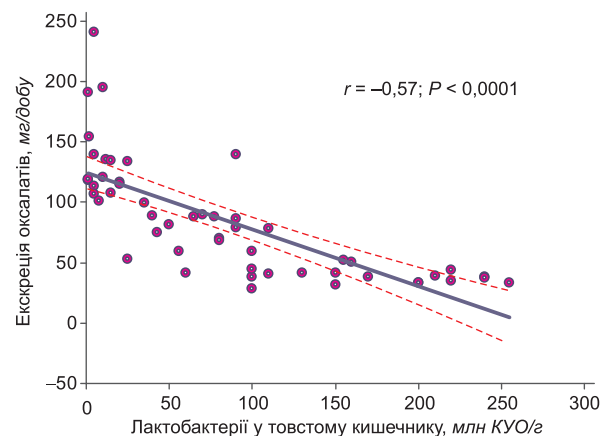


Рис. 2. Кореляція між рівнем лактобактерій у калі та добовою оксалурією у хворих на рецидивуючий піелонефрит.

Діагностична інформативність отриманих результатів видового і кількісного дослідження складу мікрофлори товстого кишечника підтверджується аналізом стану місцевого антиендотоксिनного імунітету.

Визначено, що в усіх хворих на піелонефрит з рецидивуючим перебігом порівняно з практично здоровими донорами відбувалось збільшення антигенного навантаження внаслідок надлишкової транслокації ендотоксину у системний кровотік ($P < 0,001$) (рис. 3).

Рівень загального *sIgA* у сліні достовірно корелював з кількістю рецидивів піелонефриту — чим вищою була концентрація *sIgA* тим частіше відбувались рецидиви ($r = 0,49$; $P = 0,003$). При порівнянні рівнів загального *sIgA* та анти-ЛПС-*sIgA* між групами хворих визначено, що за наявності гіпероксалурії вони були вірогідно вищими: I група — (298 ± 104) мг/л, II група — $(150,1 \pm 79,3)$ мг/л, $P < 0,001$ та $(0,35 \pm 0,16)$ УООЩ проти $(0,21 \pm 0,09)$ УООЩ, $P < 0,001$, відповідно). Більше того, рівень анти-ЛПС-*sIgA* у сліні пацієнток достовірно корелював з концентрацією оксалатів у сечі ($r = 0,84$, $P < 0,001$). Тобто, чим вищою була концентрація оксалатів у сечі, тим більшим був вміст анти-ЛПС-антитіл у сліні.

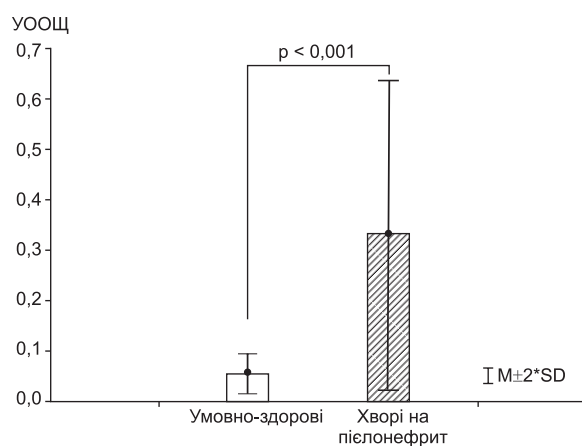


Рис. 3. Рівень антитіл класу *sIgA* до ліполісахариду у слині хворих на ХПН та практично здорових донорів. УООЩ — умовні одиниці оптичної щільності.

Визначену гіперпродукцію загального *sIgA* та антитіл класу *sIgA* до ЛПС у слині можна пояснити порушенням еубіозу кишечника під впливом постійної антибактеріальної терапії. Адже грамнегативні бактерії у вигляді біоплівки вкривають слизову оболонку ШКТ, постійно синтезуючи ЛПС та, за їх нормальної концентрації, беруть участь у формуванні місцевого імунного захисту [12, 27]. Рівень анти-ЛПС-*sIgA* у слині та копрофільтратах пацієнтів з дисбіозом кишечника корелює з кількісними та видовими змінами складу мікрофлори, зокрема з підвищенням вмісту практично патогенних бактерій, і певною мірою відображає ступінь вираженості місцевого запального процесу [4].

Дисбіотичні порушення мікробіоти кишечника обстежених жінок супроводжувались і зміною цитокінової ланки імунітету. Так, у сироватці крові усіх хворих на рецидивуючий пієлонефрит визначено достовірне підвищення рівня *MCP-1*, *IL-4*, *IL-17* та *IL-18* у порівнянні з практично здоровими донорами (табл. 3). Більше того, за наявності гіпероксалурії рівні *MCP-1* та цитокінів були вищими на 35-80 % порівняно з хворими II групи (див. табл. 3).

Нами визначені позитивні кореляції між добою екскрецією оксалатів та рівнями *MCP-1* ($r = 0,7$, $P = 0,004$) та *IL-17* ($r = 0,54$, $P = 0,004$) у крові хворих на рецидивуючий пієлонефрит. *MCP-1* відіграє важливу роль у залученні моноцитів і макрофагів крові до запалення будь-якої тканини, у тому числі кишечника та нирок. Доведено, що синантропні бактерії, такі як *Lactobacillus*, здатні інгібувати секрецію *MCP-1*, яка ініціюється шляхом активації Толл-подібних рецепторів у відповідь на ендотоксину агресію [31]. До останнього часу вважалося, що основним джерелом *MCP-1* є епітелій у місці запалення, але на сьогоднішні експериментальні дослідження довели можливість продукції *MCP-1* навіть нормальними епітелі-

альними клітинами кишечника та нирок [11, 15]. Разом з тим, надмірна експресія *MCP-1* може бути і результатом взаємодії між нирковими епітеліальними клітинами і кристалами CaOx після їх осадження у ниркових каналцях [7].

Таблиця 3

Концентрація *MCP-1* та цитокінів у сироватці крові практично здорових донорів та хворих на рецидивуючий пієлонефрит залежно від наявності гіпероксалурії, нг/л (Me [Q25-Q75])

Показник	Донори (n = 15)	I група (n = 35)	II група (n = 29)
<i>MCP-1</i>	96 [57-120]	325,2 [211-500]***	121,4 [104-107,8]****
<i>IL-4</i>	16,1 [14-17]	62,2 [52,8-74,1]**	44,5 [35,8-67]****
<i>IL-17</i>	63 [37,9-85,2]	130,7 [101,3-231,2]**	103,4 [77,5-133,9]***#
<i>IL-18</i>	27,6 [13,5-44,3]	40,9 [29-64]*	27,3 [15,5-36,3]#

Примітки: * — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,01$ порівняно з донорами, # — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,01$ порівняно з I групою.

Отже, високу продукцію цього хемокину у жінок з рецидивуючим перебігом пієлонефриту можна пояснити як дефіцитом *Lactobacillus* у складі мікробіоти кишечника, так і оксалат-індукованою запальною реакцією нирок [7, 31].

Додаткову увагу у хворих на рецидивуючий пієлонефрит привертає за наявності гіпероксалурії висока продукція *IL-17* (див. табл. 3), а також *IL-23*: I група — $(123,2 \pm 17,1)$ нг/л , II група — $(81,1 \pm 29,4)$ нг/л , $P < 0,03$. Адже головною функцією цитокінів родини *IL-17* є прозапальна і складається із включення до запальної реакції великої кількості різних клітин за рахунок індукції експресії *IL-6*, *-8*, хемокинів та металопротеїназ [2, 20, 29]. До того ж, *IL-17* відіграє важливу роль у рекрутуванні, активації і міграції нейтрофілів.

Останні експериментальні роботи продемонстрували провідну роль цих цитокінів у патогенезі запальних захворювань кишечника [7, 20]. Більше того, експресія кишковими епітеліальними клітинами цитокінів родини *IL-17* залежала від синантропних бактерій, а саме: зменшення загальної кількості мікробіоти у дорослих мишей після введення антибіотиків призводила до підвищеної експресії *IL-17* і *-23* у товстій кишці, припускаючи активне інгібування *IL-17* та *IL-23* синантропними бактеріями [32], що підтверджується результатами нашого дослідження.

IL-4 є плейотропним цитокіном, який бере участь у регулюванні гуморальних реакцій та диференціюванні *T*-лімфоцитів у *Th 2* типу. Проте, на додаток до добре відомих даних, останні дослідження свідчать про його альтернативні, прозапальні, функ-

ції залежно від моделі запалення кишечника [28]. Експериментальні дослідження щодо продукції ІЛ-4 мононуклеарними клітинами, ізольованими з власної пластинки слизової оболонки товстої кишки, продемонстрували його здатність модулювати місцеві імунні реакції як під час запалення, так і за нормальних умов. Крім того, *in vivo* було показано, що ЛПС грамнегативних бактерій здатні самостійно індукувати продукцію ІЛ-4 макрофагами [28]. Результати власного дослідження опосередковано свідчать на користь даної гіпотези: нами визначено позитивну кореляцію між концентраціями анти-ЛПС-*sIgA* у слинні та ІЛ-4 у крові ($r = 0,45$, $P = 0,04$) хворих на піелонефрит з рецидивуючим перебігом.

Отже, аналіз імунологічної складової колонізаційної резистентності мікробіоти товстого кишечника хворих на рецидивуючий піелонефрит з гіпероксалуриєю засвідчив високу продукцію епітеліальними клітинами ключових медіаторів запалення (*MCP-1*, ІЛ-4, -17 та -23), особливо у пацієнтів з гіпероксалуриєю, тобто за вираженого дефіциту індигенної мікрофлори.

Висновки

1. Для хворих на піелонефрит з рецидивуючим перебігом характерним є порушення колонізаційної резистентності товстого кишечника за рахунок зміни кількісного та якісного складу мікробіоти, що призводить до зниження її імуногенних властивостей.
2. У 95,3 % пацієнток діагностовано зниження кількості індигенної мікрофлори слизової обо-

лонки товстої кишки, а у 31,5 % жінок мала місце контамінація практично патогенними мікроорганізмами.

3. В усіх хворих спостерігалось підвищення синтезу загального *sIgA* і антитіл класу *sIgA* до ЛПС грамнегативних бактерій у слинні та рівня *MCP-1*, ІЛ-4, ІЛ-17 та ІЛ-23 у сироватці крові.
4. За наявності гіпероксалурії порушення усіх складових колонізаційної резистентності було найбільш вираженим.
5. Рівень добової екскреції оксалатів у хворих на рецидивуючий піелонефрит залежав від стану колонізаційної резистентності:
 - негативна кореляція з рівнем лактобактерій у товстому кишечнику ($r = -0,57$; $P < 0,0001$);
 - позитивна кореляція з анти-ЛПС-*sIgA* у слинні ($r = 0,84$; $P < 0,0001$);
 - позитивна кореляція з рівнями *MCP-1* ($r = 0,7$, $P = 0,0004$) та ІЛ-17 ($r = 0,54$, $P = 0,03$) у сироватці крові.
6. Зниження колонізаційної резистентності, зумовлене вище зазначеними складовими, призводить до значного зниження протиінфекційного захисту організму, збільшення кількості практично патогенних мікроорганізмів та їх транслокації з кишечника до органів сечової системи, що може бути однією з причин розвитку рецидивів.
7. На нашу думку, відновлення еубіозу мікробіоти за допомогою пробіотиків дозволить підвищити колонізаційну резистентність кишечника, зменшити рівень екскреції оксалатів і, тим самим, мінімізувати рецидиви піелонефриту.

Список використаної літератури

1. Драннік Г. М., Порошина Т. В. Особливості локальної продукції інтерлейкінів-6, -17, -23 і трансформуючого фактору росту- α у хворих на хронічний абактеріальний простатит, ускладнений безпліддям // Імунологія та алергологія. — 2010. — № 3-4. — С. 140-145.
2. Дьяченко П. А., Дьяченко А. Г. Клетки Th-17 и их роль в возникновении аутоиммунных заболеваний (Обзор литературы) // Імунологія та алергологія. — 2011. — № 2. — С. 4-9.
3. Колесник М., Степанова Н., Сташевська Н., Суржко Л. Гіпероксалурія у хворих на піелонефрит: потенційна роль у прогресуванні хронічної хвороби нирок // Укр. журн. нефрології та діалізу. — 2012. — № 2. — С. 28-33.
4. Опарина О. Н. Биологические свойства эндотоксина кишечной микрофлоры // Современные научные исследования и инновации. — 2014. — № 1 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://web.snauka.ru/issues/2014/01/31034>.
5. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. — М.: Медиасфера, 2003. — 312 с.
6. Buffie C. G., Pamer E. G. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens // Nat. Rev. Immunol. — 2013. — 13, № 11. — P. 790-801.
7. Caballero S., Pamer E. G. Microbiota-mediated inflammation and antimicrobial defense in the intestine // Annu. Rev. Immunol. — 2015. — 33. — P. 227-256.
8. Czaja C. A., Stamm W. E., Stapleton A. E. et al. Prospective cohort study of microbial and inflammatory events immediately preceding Escherichia coli recurrent urinary tract infection in women // J. Infect. Dis. — 2009. — 200, № 4. — P. 528-536.
9. Ejrnæs K. Bacterial characteristics of importance for recurrent urinary tract infections caused by Escherichia coli // Dan. Med. Bull. — 2011. — 58, № 4. — P. 4187.
10. Grabe M., Bishop M. C., Bjerklund-Johansen T. E. et al. Guidelines on Urological Infections // European Association of Urology, 2013. — 106 p.
11. Hibi T., Mikami Y., Kanai T. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 contributes to gut homeostasis and intestinal inflammation by composition of IL-10-

- producing regulatory macrophage subset // *J. Immunol.* — 2010. — **184**. — P. 2671-2676.
12. Kamada N., G. Y. Chen, Inohara N., Núñez G. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota // *Nat. Immunol.* — 2013. — **14**, № 7. — P. 685-690.
 13. Katouli M. Population structure of gut *Escherichia coli* and its role in development of extra-intestinal infections // *Iran J. Microbiol.* — 2010. — **2**, № 2. — P. 59-72.
 14. Khader S. A., Bell G. K., Pearl J. E. et al. IL-23 and IL-17 in the establishment of protective pulmonary CD4⁺ T cell responses after vaccination and during *Mycobacterium tuberculosis* challenge // *Nat. Immunol.* — 2008. — **8**. — P. 369-377.
 15. Khan S. R., Glenton P. A. Experimentally induced hyperoxaluria in MCP-1 null mice // *Urol. Res.* — 2011. — **39**, 4. — P. 253-258.
 16. Kolesnyk M., Stepanova N., Surzhko L., Stashevska N. Effect of hyperoxaluria on the progression of chronic kidney disease in women with recurrent uncomplicated pyelonephritis // *Nephrology Dialysis Transplantation.* — 2012. **27**, Suppl. 2. — P. 107.
 17. Lange J. N., Wood K. D., Wong H. et al. Sensitivity of Human Strains of Oxalobacter formigenes to Commonly Prescribed Antibiotics // *Urology.* — 2012. — **79**, № 6. — P. 1286-1289.
 18. Lawley T. D., Walker A. W. Intestinal colonization resistance // *Immunol.* — 2013. — **138**, № 1. — P. 1-11.
 19. Lee Y. K., Mazmanian S. K. Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system? // *Science.* — 2010. — **330**, № 6012. — P. 1768-1773.
 20. Liu Z., Yadav P. K., Xu X. et al. The increased expression of IL-23 in inflammatory bowel disease promotes intraepithelial and lamina propria lymphocyte inflammatory responses and cytotoxicity // *J. Leukocyte Biol.* — 2011. — **89**, № 4. — P. 597-606.
 21. López-Banda D. A., Carrillo-Casas E. M., Leyva-Leyva M. et al. Identification of virulence factors genes in *Escherichia coli* isolates from women with urinary tract infection in Mexico // *Biomed. Res. Int.* — 2014. — doi: 10.1155/2014/959206.
 22. Mohsin R., Siddiqui K. M. Recurrent urinary tract infections in females // *J. Pak. Med. Assoc.* — 2010. — **60**. — 1. № 4. — P. 55-59.
 23. Moreno E., Andreu A., Pigrau C. et al. Relationship between *Escherichia coli* strains causing acute cystitis in women and the fecal *E. coli* population of the host // *J. Clin. Microbiol.* — 2008. — **46**. — P. 2529-2534.
 24. Nielsen K. L., Dynesen P., Larsen P., Frimodt-Møller N. Faecal *Escherichia coli* from patients with *E. coli* urinary tract infection and healthy controls who have never had a urinary tract infection // *J. Med. Microbiol.* — 2014. — **63**, Pt. 4. — P. 582-589.
 25. Robijn S., Hoppe B., Vervaeke B. A. et al. Hyperoxaluria: a gut-kidney axis? // *Kidney Internat.* — 2011. — **80**. — P. 1146-1158.
 26. Silverman J. A., Schreiber H. L., Hooton Th. M. From physiology to pharmacy: Developments in the pathogenesis and treatment of recurrent urinary tract infections // *Current Urology Reports.* — 2013. — **14**. — P. 448-456.
 27. Smith Ph. D., MacDonald Th. T., Blumberg R. S. Principles of mucosal immunology. — London: Garland Science, 2013. — 529 p.
 28. Soares P. M., Mota J. M., Souza J. M. et al. Inflammatory intestinal damage induced by 5-fluorouracil requires IL-4 // *Cytokine.* — 2013. — **61**, № 1. — P. 46-49.
 29. Tesmer L. A., Lundy S. K., Sarkar S., Fox D. A. Th17 cells in human disease // *Immunol. Rev.* — 2008. — **223**. — P. 87-113.
 30. Ubeda C., Pamer E. G. Antibiotics, microbiota, and immune defense // *Trends Immunol.* — 2012. — **33**, № 9. — P. 459-466.
 31. Wang B. L., Li J., Chen J. et al. Effect of live *Lactobacillus plantarum* L2 on TNF-alpha-induced MCP-1 production in Caco-2 cells // *Int. J. Food Microbiol.* — 2010. — **142**, № 1-2. — P. 237-241.
 32. Zaph C., Du Y., Saenz S. A., Nair M. G. et al. Commensal-dependent expression of IL-25 regulates the IL-23-IL-17 axis in the intestine // *J. Exp. Med.* — 2008. — **205**, № 10. — P. 2191-2198.

Одержано 10.09.2015

ГІПЕРОКСАЛУРІЯ І КОЛОНІЗАЦІОННА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ КИШЕЧНИКА У БОЛЬНИХ С РЕЦИДИВІРУЮЩИМ ТЕЧЕННЯМ ПІЕЛОНЕФРИТА

Н. А. Колесник, Н. М. Степанова, Н. В. Стасевская, В. Е. Дриянская

Государственное учреждение “Институт нефрологии НАМН Украины”, 04050 Киев

Гипероксалурія і порушення колонізаційної резистентності кишечника можуть бути тригер-факторами формування рецидивуючого течення пієлонефриту. Цілью роботи було дослідити колонізаційну резистентність кишечника у больових пієлонефритом з рецидивуючим теченням і гіпероксалурією. Проведено обсерваційне одномоментне обстеження 64 жінок з рецидивуючим теченням пієлонефриту, середній вік яких склав (31,6 ± 7,7) років. В залежності від наявності гіпероксалурії пацієнтки були поділені на дві групи: в I (n = 35) включено жінок з гіпероксалурією, в II (n = 29) вошли больові з нормальним рівнем екскреції оксалатів. Групу контролю склали 15 практично здорових донорів. Культуральне дослідження фекалій виявило дисбіотичні порушення у всіх обстежених пацієнток, серед яких у 61 (95,3 %) спостерігалося зниження кількості інди-

генной микрофлоры слизистой оболочки толстой кишки, а у 20 (31,5 %) пациенток имела место контаминация условно-патогенными и патогенными микроорганизмами. Сравнительный анализ состава микрофлоры в зависимости от наличия гипероксалурии определил достоверное снижение состава бифидо- и лактобактерий у женщин I группы. У всех больных в слюне определялось повышение синтеза общего *sIgA* и антител класса *sIgA* к липополисахариду грамотрицательных бактерий, а в сыворотке крови — концентрации МСП-1, IL-4, IL-17 и IL-23. У пациенток с гипероксалурией все исследуемые показатели цитокинового звена иммунитета были достоверно повышенными. Таким образом, состояние колонизационной резистентности толстого кишечника больных с рецидивирующим течением пиелонефрита характеризуется снижением содержания индигенной микрофлоры разной степени тяжести, что приводит к снижению иммунологических свойств микробиоты и может быть одной из причин формирования рецидивов.

HYPEROXALURIA AND INTESTINAL COLONIZATION RESISTANCE IN PATIENTS WITH RECURRENT PYELONEPHRITIS

N. A. Kolesnyk, N. M. Stepanova, N. V. Stashevskaia, V. E. Driianskaia

State Institution "Institute of Nephrology NAMS Ukraine", 04050 Kyiv

Hyperoxaluria and disturbances of intestinal colonization resistance can be trigger factors in the formation of recurrent pyelonephritis. The study was aimed at investigating intestinal colonization resistance in patients with recurrent pyelonephritis and hyperoxaluria. An observational cross-sectional study involving 64 women — (31.6 ± 7.7) years — with recurrent pyelonephritis. Depending on the presence of hyperoxaluria, the patients were divided in two groups: group 1 — 35 patients with hyperoxaluria and group 2 — 29 patients with normal level of excretion of oxalates. The control group consisted of 15 practically healthy donors. A stool culture study demonstrated dysbiotic disturbances in all patients studied: 61 (95.3 %) patients had a decrease in the amount of indigenous microflora of the colon mucosa, and 20 (31.5 %) women had the contamination with opportunistic and conditionally pathogenic microorganisms. A comparative analysis of microflora composition depending on the presence of hyperoxaluria revealed a significant decrease in the bifido- and lactobacteria composition in the women of group 1. All patients had increased synthesis of *sIgA* and *IgA* against LPS of Gram-negative bacteria in the saliva, as well as of concentration of the MSP-1, IL-4, IL-17 and IL-23 in the blood serum. In patients of group 1 all investigated cytokines were significantly elevated. The status of intestinal colonization resistance of patients with recurrent pyelonephritis is characterized by a decrease in the content of indigenous microflora of varying severity, which leads to a decrease in the immunological properties of microbiota and may be one of the causes of formation of recurrences.