

НАРУШЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК И МЕЖКЛЕТОЧНОЙ КООПЕРАЦИИ В КРОВИ В РАННИЕ СРОКИ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПИЕЛОНЕФРИТА

*Д.М. Смирнов, А.С. Вершинин, В.А. Бычковских
Челябинская государственная медицинская академия, г. Челябинск*

В ходе экспериментального исследования установлено, что одну из ключевых ролей в развитии синдрома системного воспалительного ответа при экспериментальном пиелонефрите играет нарушение процессов клеточного взаимодействия и реологических свойств крови.

Ключевые слова: острый пиелонефрит, воспалительная реакция, лейкоциты, межклеточные взаимодействия в крови.

Острый пиелонефрит является одной из наиболее актуальных проблем современной неотложной урологии [1, 4, 13]. Являясь самостоятельным, или осложняя течение других урологических заболеваний, острый пиелонефрит нередко приводит к потере почки [1, 12, 17]. На сегодняшний день, несмотря на успехи хирургического лечения, интенсивной лекарственной терапии, заболеваемость пиелонефритом не имеет тенденции к снижению [4, 13, 14, 17].

Одной из главных причин неудовлетворительных результатов лечения больных, перехода процесса в гнойно-септическую или хроническую форму, по всей видимости, является отсутствие единого понимания патогенеза септического процесса с его ранних сроков [13, 17]. Общеизвестно, что воспалительный процесс является фактором активации клеток крови и эндотелиоцитов, что с позиции теории о единой клеточно-гуморальной системе защиты организма предполагает реактивные изменения клеточно-клеточного взаимодействия в крови [3, 15, 16]. Быстрое накопление в тканях и биологических жидкостях эндотоксинов в аномально высоких концентрациях, срыв механизмов регуляции воспалительного ответа обуславливает развитие тяжелых эндотоксикозов, микроциркуляторных и декомпенсированных метаболических нарушений, что и определяет, в конечном счете, исход заболевания [3, 4, 12]. Традиционные рутинные методы исследования не дают полной информации об особенностях изменения клеточного метаболизма в ходе течения острого пиелонефрита, что требует разработки новых подходов [13, 14, 17].

Изложенные выше обстоятельства определили **цель** нашего исследования: изучить в эксперименте изменения функциональной активности клеток крови, клеточно-клеточные взаимодействия в динамике на ранних сроках развития острого пиелонефрита.

Материалы и методы. Работа выполнена на 124 половозрелых крысах линии Wistar обоего

пола, массой 270–325 г. Все исследования проведены в соответствии с этическими нормами гуманного обращения с экспериментальными животными. Проведено 2 серии экспериментов: А – контрольная серия ($n = 24$) – здоровые наркотизированные животные, у которых в «остром» опыте на фоне ложной операции проводили забор биологического материала (кровь, кусочки внутренних органов). У животных серий В ($n = 100$) моделировали острый пиелонефрит путем пункции лоханки правой почки и введения аутофекальной взвеси [7]. Описанные показатели изучали в динамике 2–5-х сут развития заболевания.

В работе использовали стандартные методы клинической лабораторной диагностики (определения общего количества эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, лейкограммы) [9]. Адгезивную способность клеток крови определяли с использованием эндотелия аорты крыс по оригинальной методике [5]. Также определяли плотность поверхностного электрического заряда мембраны лейкоцитов, эритроцитов [11], миграционную активность лейкоцитов [2], фагоцитарную функцию лейкоцитов [10], сорбционную способность эритроцитов [8], клеточно-клеточные и межклеточные взаимодействия в крови [6]. Бактериологические и морфологические исследования включали посеvy крови, мочи с идентификацией возбудителя, стандартное патогистологическое исследование аутопсийного материала. Обработка материала проведена стандартными методами описательной и вариационной статистики с использованием лицензионных пакетов прикладных программ.

Результаты и их обсуждение. Развитие острого пиелонефрита, подтвержденного патоморфологическими и бактериологическими методами, у животных происходило уже на 2-е сут эксперимента. С этого времени выявлялись достоверные клинико-лабораторные признаки синдрома системного воспалительного ответа: лихорадка, тахипноэ, нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом в лейкограмме в сторону юных форм нейтрофилов. Во все

Таблица 1

Изменение количества и функций лейкоцитов в ходе развития острого пиелонефрита (M ± m; σ)

Группы сравнения	Общее количество, × 10 ⁹ /л	Адгезия, %		Общее количество ЛА, × 10 ⁹ /л	ППЭЗМ, эл. ст. ед./см ²	Индекс хемотаксиса, у.е.	Фагоцитоз	
		Гранулоциты	Агранулоциты				АФ, %	ИФ, у.е./кл.
Интактные животные (n = 24)	9,94 ± 0,35; 1,20	68,64 ± 4,02; 9,84	21,55 ± 3,64; 8,92	1,08 ± 0,12; 0,28	2509,58 ± 61,61; 213,42	0,97 ± 0,03; 0,08	23,00 ± 0,74; 2,45	3,45 ± 0,26; 0,85
	11,24 ± 0,68; 1,68*	74,94 ± 4,52; 10,09*	19,68 ± 6,16; 15,09**	1,12 ± 0,09; 0,21	2575,00 ± 78,52; 192,33	1,01 ± 0,02; 0,07	34,78 ± 2,01; 6,02*	3,45 ± 0,26; 0,77
Модель «Острый пиелонефрит»	17,83 ± 0,69; 2,06*	71,05 ± 3,03; 7,41**	20,45 ± 2,16; 1,74	1,38 ± 0,17; 0,40*	3521,67 ± 77,43; 189,68*	1,00 ± 0,04; 0,05	31,20 ± 1,16; 2,59	3,11 ± 0,17; 0,63
	15,40 ± 0,41; 1,00*	69,02 ± 1,33; 2,97	15,17 ± 2,16; 4,82**	1,49 ± 0,19; 0,45*	4121,67 ± 83,72; 205,08*	1,03 ± 0,06; 0,14**	35,00 ± 1,49; 4,47*	2,76 ± 0,18; 0,55*
5 сут (n = 20)	15,98 ± 1,00; 2,46*	72,39 ± 3,09; 7,56	20,46 ± 4,14; 10,14	1,52 ± 0,19; 0,47*	3400,00 ± 159,73; 391,25*	1,05 ± 0,04; 0,11**	39,78 ± 1,75; 5,23*	5,30 ± 0,32; 1,17*

Таблица 2

Изменение количества межклеточных коагратов в ходе развития острого пиелонефрита, × 10⁹/л (M ± m; σ)

Группы сравнения	ЭЛК			ЛТК			ЭТК		
	Общее кол-во	Малые	Большие	Общее кол-во	Малые	Большие	Общее кол-во	Малые	Большие
Интактные животные (n = 24)	6,88 ± 0,49; 1,21	5,40 ± 0,52; 1,28	1,48 ± 0,23; 0,56	5,36 ± 0,56; 1,37	3,43 ± 0,65; 1,59	1,93 ± 0,15; 0,37	50,88 ± 3,79; 9,27	48,26 ± 3,40; 8,34	2,61 ± 0,56; 1,36
	7,90 ± 2,12; 4,30	6,18 ± 1,11; 2,36	1,73 ± 0,21; 0,52	4,55 ± 0,38; 0,93	3,31 ± 0,35; 0,87	1,24 ± 0,11; 0,27	47,31 ± 2,39; 4,91**	44,51 ± 1,85; 3,79	1,80 ± 0,33; 0,81**
Модель «Острый пиелонефрит»	8,41 ± 1,18; 2,89*	6,41 ± 0,69; 1,71	2,00 ± 0,51; 1,25**	5,42 ± 0,44; 1,03	3,82 ± 0,51; 1,12*	1,60 ± 0,15; 0,42	53,83 ± 4,06; 9,95	50,85 ± 3,63; 8,90	2,98 ± 0,78; 1,92
	8,08 ± 0,58; 1,43**	5,95 ± 0,67; 1,63	2,13 ± 0,22; 0,54*	7,12 ± 0,59; 1,44*	4,64 ± 0,59; 1,46*	2,48 ± 0,25; 0,62*	62,16 ± 3,77; 9,23*	57,21 ± 3,66; 8,34*	4,95 ± 0,75; 1,85*
5 сут (n = 20)	8,77 ± 0,74; 1,81*	5,67 ± 0,75; 1,84*	3,10 ± 0,30; 0,74*	9,18 ± 0,69; 1,71*	6,36 ± 0,93; 2,29*	2,82 ± 0,39; 0,95*	54,23 ± 3,21; 7,86	50,74 ± 3,76; 9,22	3,49 ± 0,93; 2,29*

Примечание. * – достоверность различий с интактными животными по t-критерию Стьюдента, ** – по U-критерию Манна – Уитни при p < 0,05.

сроки исследования были выявлены бактериемия и бактериурия в диагностических титрах. Летальность среди животных опытной группы к 5-м сут эксперимента составляла 23 % ($p = 0,042$).

На 2–4-е сут от момента индукции пиелонефрита, отмечен рост плотности поверхностного электрического заряда мембраны (ППЭЗМ) лейкоцитов. Установленная на 2-е–3-и сут умеренная корреляция между абсолютным содержанием клеток в циркуляции и их адгезивной способностью, позволяет говорить, что лейкоцитоз, отмеченный нами на 2-е сут эксперимента, обусловлен мобилизацией костно-мозгового и демаргинацией пристеночного пулов зрелых клеток (коэффициент корреляции Спирмена (ρ) = 0,77; 0,58; 0,64 на 2-е, 3-и и 4-е сут соответственно, $p < 0,002$), а также увеличением количества юных форм гранулоцитов ($\rho = 0,66$; 0,52; 0,69 на 2-е, 3-и и 4-е сут соответственно, $p < 0,05$). Антимикробная защита на 2–4-е сут обеспечивалась за счет усиления активности фагоцитоза (АФ) на фоне снижения его интенсивности (ИФ), и только к 5-м сут возрастали как активность, так и интенсивность фагоцитоза. С 3-х сут увеличивались локомоторная активность лейкоцитов (табл. 1).

Наличие дисфункции эритроцитарных мембран подтверждается увеличением со 2-х сут количества эритроцитарных агрегатов и сорбционной способности эритроцитов.

Начиная со 2-х сут эксперимента, обнаружено достоверное увеличение количества эритроцитарно-лейкоцитарных коагрегатов (ЭЛК). На 2-е–3-и сут – увеличение обусловлено достоверным ростом больших форм коагрегатов, а к 5-м сут – за счет снижения малых и значительного роста больших форм. Рост количества лейкоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов (ЛТК) на 3-и и 4-е сут обусловлен увеличением, как малых, так и больших форм. Интересен тот факт, что образование эритроцитарно-тромбоцитарных коагрегатов (ЭТК) снижается ко 2-м сут эксперимента за счет падения больших форм и достоверно увеличивается к 3-м сут за счет как малых, так и больших форм (табл. 2). Обнаруженная нами на 3-и–5-е сут эксперимента статистически значимая сильная положительная корреляция между сорбционной способностью эритроцитов и количеством межклеточных коагрегатов (индекс корреляции Спирмена 0,83, $p = 0,0007$) позволяет говорить о возможной роли эндогенной интоксикации в нарушении клеточного взаимодействия в крови за счет нарушения стабильности мембран.

Таким образом, результаты экспериментального исследования позволяют заключить, что одну из ключевых ролей в развитии синдрома системного воспалительного ответа при остром пиелонефрите играет нарушение регуляции процессов клеточно-клеточного взаимодействия.

Во-первых, установлено, что развитие эндогенной интоксикации происходит уже ко 2-м сут

эксперимента и статистически значимо коррелирует во все сроки с абсолютным количеством лейкоцитов в циркуляции ($\rho = 0,84$; 0,71; 0,63; 0,59 и 0,66 соответственно, $p < 0,05$). Во-вторых, проведенный корреляционный анализ между уровнем лейкоцитоза и функциональной способностью лейкоцитов (адгезия, локомоция, фагоцитоз, генерация активных метаболитов кислорода) позволяет говорить, что усиление функции лейкоцитов, отстает во времени от их количественного увеличения. Значимый прирост функции лейкоцитов отмечается лишь на 4–5-е сут. В-третьих, изменение со 2-х сут функциональной активности клеток крови, ведущее к увеличению их адгезивно-агрегационных свойств, уже к 3–5-м сут приводит к нарушениям процессов клеточного взаимодействия и ухудшению реологических свойств крови.

Выводы

1. Развитие экспериментального пиелонефрита со 2-х сут сопровождается формированием синдрома эндогенной интоксикации, что коррелирует с абсолютным количеством лейкоцитов в циркуляции.

2. Лейкоцитоз на ранних сроках развития острого пиелонефрита обусловлен мобилизацией костно-мозгового и демаргинацией пристеночного пулов зрелых клеток, а также увеличением количества юных форм гранулоцитов.

3. Увеличение функциональной способности лейкоцитов (адгезии, локомоции, фагоцитоза, генерации активных метаболитов кислорода) в ходе развития экспериментального пиелонефрита отмечается на 3-и–5-е сут и отстает во времени от количественного увеличения клеток в циркуляции.

Развитие экспериментального пиелонефрита со 2–3-х сут сопровождается изменением плотности поверхностного электрического заряда клеток крови, усилением их адгезивных свойств, что к 4–5-м сут приводит к увеличению образования клеточных коагрегатов в крови и ухудшению гемореологии. Количество межклеточных коагрегатов в ранние сроки развития экспериментального пиелонефрита положительно коррелирует с уровнем эндогенной интоксикации.

Литература

1. Голод, Е.А. Повышение уровня активных форм кислорода как одна из причин нарушения метаболизма в клетках почечных канальцев у больных острым и хроническим пиелонефритом / Е.А. Голод, В.И. Кирпатовский // Урология. – 2000. – № 1. – С. 59–61.
2. Долгушин, И.И. Нейтрофилы и гомеостаз / И.И. Долгушин, О.В. Бухарин. – Екатеринбург: Изд-во УрО РАН, 2001. – 283 с.
3. Иммунологические показатели у больных мочекаменной болезнью и вторичным пиелонефритом / Н.И. Казеко // Урология. – 2008. – № 1. – С. 11–15.

4. Клинические аспекты диагностики и оперативного лечения первичного острого гнойно-деструктивного пиелонефрита / С.М. Алферов // Хирургия. – 2008. – № 7. – С. 15–19.
5. Осиков, М.В. Способ оценки адгезивной способности лейкоцитов / М.В. Осиков, Д.М. Смирнов // II Всерос. университет. науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов по медицине: сб. материалов. – Тула: Автограф, 2003. – С. 107–108.
6. Смирнов, Д.М. Патофизиология раннего воспаления при остром перитоните и методы его коррекции в эксперименте: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Д.М. Смирнов. – Челябинск: ЧелГМА, 2008. – 24 с.
7. Соколова, Х.А. Гипербарическая оксигенация в комплексном лечении острого пиелонефрита: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Х.А. Соколова. – Ярославль: ЯГМА, 2009. – 24 с.
8. Тогойбаев, А.А. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А.А. Тогойбаев // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.
9. Тодоров, Й. Клинические лабораторные исследования в педиатрии / Й. Тодоров. – София: Медицина и физкультура, 1968. – 1064 с.
10. Фрейдлин, И.С. Методы изучения фагоцитирующих клеток при оценке иммунного статуса человека / И.С. Фрейдлин. – Л., 1986. – 272 с.
11. Харамоненко, С.С. Электрофорез клеток крови в норме и патологии / С.С. Харамоненко, А.А. Ракитянская. – Минск: Беларусь, 1974. – 143 с.
12. Эфферентная терапия в комплексном лечении острого гнойного пиелонефрита в раннем послеоперационном периоде / В.Е. Антонова, А.Г. Мартов, А.П. Данилков и др. // Урология. – 2007. – № 4. – С. 94–99.
13. Krieger, J.N. Urinary tract infection: what's new? / J.N. Krieger // J. Urol. – 2002. – Vol. 168. – P. 2351–2358.
14. Nieuwkoop, C. Prospective cohort study of acute pyelonephritis in adults: Safety of triage towards home based oral antimicrobial treatment / C. Nieuwkoop, J.W. Wout, I.C. Spelt // J. Infect. – 2010. – Vol. 60, № 4. – P. 114–121.
15. Pavlidis, T.E. Cellular changes in association with defense mechanisms in intraabdominal sepsis / T.E. Pavlidis // Minerva Chir. – 2003. – Vol. 58, № 6. – P. 777–781.
16. Reinhart, K. Markers of endothelial damage in organ dysfunction and sepsis / K. Reinhart, O. Bayer, F. Brunkhorst // Crit. Care Med. – 2002. – Vol. 30, 5 suppl. – P. 302–313.
17. Tenke, P. The role of biofilm infection in urology / P. Tenke, B. Kovacs, M. Jackel // World J. Urol. – 2006. – Vol. 24. – P. 13–20.

Поступила в редакцию 10 августа 2012 г.