

РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ ПРИ ПАРЕНТЕРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ 0,06% РАСТВОРА ГИПОХЛОРИТА НАТРИЯ

В. В. ИВАЩЕНКО, И. В. ЧЕРНЫШЕВ, А. А. КАЛАБЕКОВ, М. В. ГРЕБЕНКИН, А. В. ИВАЩЕНКО, Л. М. НИКОНОВА

Самарский государственный медицинский университет, Самара

Сведения об авторах:

Чернышев Игорь Владиславович - доктор медицинских наук, профессор, заведующий урологическим отделением ФГБУ «Объединенная больница с поликлиникой» Управления делами Президента Российской Федерации, e-mail: ivchernyshev@fgu-obp.ru

Статья посвящена изучению влияния гипохлорита натрия (ГН) на регуляцию иммунного ответа у больных с острым пиелонефритом и синдромом системного воспалительного ответа.

Клинические исследования показали, что ГН обладает кратковременным, управляемым, дозозависимым иммунодепрессивным эффектом в отношении моноцитов, лимфоцитов и нейтрофилов. ГН способен ограничивать клеточные и гуморальные факторы иммунной защиты в условиях чрезмерной микробной нагрузки у больных с острым пиелонефритом и клиническими проявлениями синдрома системного воспалительного ответа. ГН вызывает активацию иммунной системы после однократного воздействия на 3-4-е и 7-10-е сутки, которая выражается в увеличении количества всех субпопуляций лимфоцитов на 5-21%, усилением пролиферативной активности лимфоцитов на 28% и достоверным увеличением эффекторной функции активированных Т-лимфоцитов в 1,72 раза.

Ключевые слова: гипохлорит натрия, непрямо электрохимическое окисление крови, острый пиелонефрит, иммунитет.

Препарат 0,06% раствора гипохлорита натрия (ГН) был разработан с целью моделирования монооксигеназной функции печени при непрямом электрохимическом окислении (НЭХО) крови для детоксикации организма больных, находящихся в критическом состоянии [1,2]. Уникальность ГН заключается в том, что это вещество синтезируется в нейтрофилах и макрофагах в результате миелопероксидазной активности во время фагоцитоза и не является чужеродным [3]. Бактерицидная активность ГН в отношении бактерий, вирусов, грибов хорошо изучена [4]. Представляют интерес результаты исследования, в котором комбинированное применение ГН и канамицина значительно повышало антимикробную активность антибиотика в отношении основных представителей гнойной хирургической инфекции – стафилококка и кишечной палочки [5]. Заслуживает внимания также сообщение о возможности регуляции функции иммунной системы активными формами кислорода на примере гипохлорит аниона (ClO-) [6].

В настоящей статье описаны результаты изучения влияния 0,06% раствора ГН на регуляцию иммунного ответа у больных с острым пиелонефритом и синдромом системного воспалительного ответа (ССВО).

Материалы и методы

Исследование выполнено в условиях урологического стационара в двух группах. Группу №1 составили 20 больных с острым пиелонефритом, в которую вошли 12 женщин в возрасте от 19 до 63 лет и 8 мужчин в возрасте от 22 до 67 лет.

18 больных были оперированы по поводу мочекаменной болезни, 1 больному выполнили чреспузырную аденомэктомию, 1 больному сделали пластику лоханочно-мочеточникового сегмента по поводу гидронефроза. У всех больных наблюдали развитие острого пиелонефрита в раннем послеоперационном периоде. Больные получали антибактериальную терапию в течение 10 дней, которая оказалась недостаточно эффективной. Течение острого пиелонефрита характеризовалось гипертермией, лейкоцитозом, сдвигом лейкоцитарной формулы влево, развитием синдрома системного воспалительного ответа. В течение 10 дней всем больным контролировали анализ крови клинический на 1-е, 5-е и на 10-е сутки лечения. Изучали динамику абсолютного числа лейкоцитов крови, палочкоядерных нейтрофилов, сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, базофилов, подсчитывали величину лейкоцитарного индекса интоксикации (ЛИИ) [7]. В связи с недостаточной неэффективностью антибактериальной терапии, на фоне нарастания общей интоксикации всем больным проводили сеансы непрямого электрохимического окисления крови 0,06% раствором гипохлорита натрия в дозе 1,9–3,3 мг/кг/сутки с общим объемом на курс лечения 400–1200 мл. Парентеральное введение 0,06% раствора ГН осуществляли через катетер в подключичной вене согласно методическим рекомендациям по применению растворов ГН [8]. Контролировали клинический анализ крови до начала курса НЭХО крови, на 1-3-е сутки и 7-10-е сутки наблюдения. Изучали динамику абсолютного чис-

ла лейкоцитов крови, палочкоядерных нейтрофилов, сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, базофилов, подсчитывали величину ЛИИ.

Для уточнения особенностей влияния 0,06% раствора ГН на субпопуляции лимфоцитов крови провели исследование в группе больных №2, которую составили 5 мужчин в возрасте от 24 до 67 лет, страдающих мочекаменной болезнью. У всех больных 2-й группы развился острый пиелонефрит в раннем послеоперационном периоде с признаками ССВО: температура тела более 38°C, сдвиг лейкоцитарной формулы влево, количество палочкоядерных нейтрофилов более 10% в лейкоцитарной формуле крови [9]. Пациенты получали антибактериальную и инфузионную терапию. В отличие от группы №1, в которой больные получали сеансы электрохимической детоксикации неоднократно, до полного исчезновения признаков ССВО, больным группы №2 внутривенно (в/в), капельно, однократно через катетер в подключичной вене вводили 0,06% раствор гипохлорита натрия в объеме 100–300 мл в дозе 1,0–2,5 мг/кг/сутки. Изучали динамику Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов и Т-цитотоксических клеток, естественных киллерных клеток. Также контролировали иммунорегуляторный индекс, NK-Т-киллеры, активированные Т-лимфоциты CD3+DR+ и клетки CD3+CD25+, несущие рецептор к интерлейкину 2. Показатели контролировали до и после НЭХО крови 0,06% раствором ГН на 1-е сутки, на 3–4-е сутки и на 7–10-е сутки наблюдения. Исследование выполняли на точном цитометре Beckman Coulter EPICS® XL.

Статистическую обработку данных производили на персональном компьютере, используя программу «Статистика 6», с расчетом достоверности по непараметрическому U-критерию Манна-Уитни.

Результаты

Динамика абсолютного числа лейкоцитов и ЛИИ в течение 10 дней у больных с острым пиелонефритом, получающих общепринятую антибактериальную и инфузионную терапию, представлена в таблице 1.

До начала курса НЭХО крови 0,06% раствором ГН у больных с острым пиелонефритом мы наблюдали прогрессирующее воспалительное процесса в течение 10 дней наблюдения. Достоверно увеличилось количество лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов крови. ЛИИ свидетельствовал о наличии резорбтивных процессов из очага воспаления и ухудшении состояния больных в группе №1.

В таблице 2 представлены данные абсолютного числа лейкоцитов и ЛИИ в той же группе больных после назначения сеансов НЭХО крови 0,06% раствором ГН. Уже на 1–3-и сутки обнаружили достоверное снижение абсолютного числа лейкоцитов преимущественно за счет палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов. Достоверно, более чем на 50%, снизилось количество моноцитов крови. ЛИИ был близок к нормальным значениям.

На 7–10-е сутки после начала сеансов НЭХО крови 0,06% раствором ГН количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов оставалось достоверно ниже исходных значений, а количество моноцитов достоверно увеличилось по сравнению с 1–3-и сутками контроля. Значение ЛИИ оставалось в пределах нормы. Сеансы НЭХО крови 0,06% раствором гипохлорита натрия в дозе 1,9–3,3 мг/кг/сутки с общим объемом на курс лечения 400–1200 мл существенно не повлияли на количество лимфоцитов крови, которое оставалось в пределах нормальных величин.

Результаты изучения иммунного статуса в группе №2 представлены в таблице 3. В этой группе больным с острым пиелонефритом и системным ответом на воспаление НЭХО крови 0,06% раствором гипохлорита натрия в объеме 100–300 мл и в дозе 1,0–2,5 мг/кг/сутки проводили однократно. Наиболее выраженные изменения в иммунном статусе пациентов обнаружили на 1-е сутки наблюдения. Снижалось абсолютное количество практически всех субпопуляций лимфоцитов. Наиболее чувствительными оказались В-лимфоциты. Их количество уменьшилось достоверно по сравнению с исходными данными.

Таблица 1

Динамика абсолютного числа лейкоцитов и ЛИИ у больных с острым пиелонефритом до проведения сеансов НЭХО крови 0,06 % раствором ГН (M=M±σ), группа №1

Показатель	Норма	10 суток до НЭХО крови	5 суток до НЭХО крови	1-2 суток до НЭХО крови
Лейкоциты крови, ×10 ⁹ /л	4-9	8,8±3,4	9,7±4,2	12,9±4,9 ^{**}
Палочкоядерные нейтрофилы, ×10 ⁹ /л	0,04-0,3	0,5±0,6	0,7±0,7	1,0±0,8*
Сегментоядерные нейтрофилы, ×10 ⁹ /л	2-5,5	6,0±2,5	6,2±2,7	8,7±4,1
Лимфоциты, ×10 ⁹ /л	1,2-3	1,5±0,4	1,8±0,9	2,0±0,7*
Моноциты, ×10 ⁹ /л	0,09-0,6	0,5±0,3	0,8±0,7	0,9±0,5*
Эозинофилы, ×10 ⁹ /л	0,02-0,3	0,2±0,2	0,13±0,14	0,3±0,2
Базофилы, ×10 ⁹ /л	0-0,065	0,007±0,03	0,02±0,06	0,006±0,025
ЛИИ, ед	1	1,7±1,6	1,8±1,0	2,0±1,8

* – различие достоверно по сравнению с данными за 10 суток до начала сеансов НЭХО крови (p<0.05)

** – различие достоверно по сравнению с данными за 5 суток до начала сеансов НЭХО крови (p<0.05)

Таблица 2

Динамика абсолютного числа лейкоцитов и ЛИИ у больных с острым пиелонефритом на фоне проведения сеансов НЭХО крови 0,06 % раствором ГН (M=M±σ), группа №1

Показатель	Норма	До НЭХО крови	1-3-е сутки после начала НЭХО крови	7-10-е сутки после начала НЭХО крови
Лейкоциты крови, ×10 ⁹ /л	4-9	12,9±7,0	7,0±3,1*	7,9±3,0*
Палочкоядерные нейтрофилы, ×10 ⁹ /л	0,04-0,3	1,2±1,6	0,5±0,4*	0,4±0,4*
Сегментоядерные нейтрофилы, ×10 ⁹ /л	2-5,5	8,2±4,2	4,1±2,3*	4,1±1,7*
Лимфоциты, ×10 ⁹ /л	1,2-3	2,1±1,0	1,8±1,0	2,2±1,0
Моноциты, ×10 ⁹ /л	0,09-0,6	1,1±1,3	0,4±0,3*	0,7±0,5**
Эозинофилы, ×10 ⁹ /л	0,02-0,3	0,19±0,15	0,17±0,17	0,27±0,2
Базофилы, ×10 ⁹ /л	0-0,065	0,04±0,1	0,03±0,05	0,02±0,04
ЛИИ, ед	1	1,7±1,1	1,2±1,2*	0,6±0,5*

* – различие достоверно по сравнению с данными до начала сеансов НЭХО крови (p<0,05)

* – различие достоверно по сравнению с данными на 1-3 сутки после начала сеансов НЭХО крови (p<0,05)

Величина средней арифметической иммунорегуляторного индекса снизилась до 0,95%.

На 3-4-е и 7-10-е сутки в группе №2 наблюдали обратную реакцию: увеличение абсолютного числа всех субпопуляций лимфоцитов. Достоверно увеличилось количество Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов и естественных киллерных клеток. Процент активированных Т-лимфоцитов: CD3+DR+ и CD3+CD25+ неуклонно возрастал после НЭХО крови 0,06% раствором ГН. Это указывало на усиление эффекторных функций Т-лимфоцитов.

Таким образом, в группе №2 к 3-4 и 7-10 суткам наблюдения отметили не только увеличение общего числа лимфоцитов на 15%, Т-лимфоцитов на 16%, В-лимфоцитов на 5% по сравнению с данными до начала сеансов НЭХО крови, но и улучшение эффекторной функции Т-лимфоцитов. Количество Т-хелперов увеличилось на 9%, Т-цитотоксических лимфоцитов – на 20%, естественных киллерных клеток – на 21%.

Обсуждение

У больных с острым пиелонефритом и синдромом системного ответа на воспаление наблюдали динамический ответ со стороны лейкоцитов крови после НЭХО крови 0,06% раствором ГН соответствующий процессу торможения функции иммунной системы организма. Наименьшему циторедуктивному воздействию были подвержены лимфоциты, количество которых снижалось на 14% на 1-3-и сутки наблюдения и возвращалось к нормальным значениям на 7-10-е сутки. Количество нейтрофилов снижалось на 50% на 1-3-и сутки контроля и не изменялось до конца исследования, оставаясь в пределах нормы. Моноциты достоверно снижались на 60% на 1-3 сутки контроля, но оставались в пределах нормальных значений. Увеличение среднего абсолютного числа моноцитов обнаружили на 7-10-е сутки контроля, что может быть следствием активации иммунного фагоцитоза.

Анализ динамики количества лимфоцитов у больных с острым пиелонефритом в группе №2, которым провели один

сеанс электрохимической детоксикации, показал, что практически все субпопуляции лимфоцитов находились в процессе торможения под действием 0,06% раствора ГН. Наиболее чувствительными оказались В-лимфоциты, их количество достоверно снижалось на 1-е сутки контроля иммунного статуса после парентерального введения 0,06% раствора ГН. Количество В-лимфоцитов достигло исходной величины только на 7-10-е сутки контроля. Аналогичная тенденция прослеживалась и в отношении субпопуляций Т-лимфоцитов. Минимальное количество Т-лимфоцитов у пациентов в группе №2 регистрировали на 1-е сутки исследования. На 3-4-е сутки и на 7-10-е сутки наблюдали не только восстановление, но и достоверное увеличение их числа.

Таким образом, НЭХО крови раствором ГН, моделируя монооксигеназную детоксицирующую функцию печени, вызывает кратковременное снижение количества иммунокомпетентных клеток, т.е. оказывает тормозящее действие на органы иммуногенеза.

Тормозящее действие ГН на лейкоциты (нейтрофилы, лимфоциты, моноциты) является сложным и неоднозначным. С одной стороны, в условиях чрезмерной микробной нагрузки у больных с синдромом системного воспалительного ответа легкая, контролируемая иммуносупрессия позволяет избежать повышенной миграции фагоцитов в органы и ткани организма, гиперпродукции провоспалительных цитокинов и их длительной циркуляции в сосудистом русле, повреждения эндотелия сосудов и развития синдрома полиорганной недостаточности. А с другой стороны тормозящее воздействие на органы иммуногенеза сменяется возбуждением и активацией их функции. Реализацию подобного эффекта мы наблюдали в группе больных №2 с острым пиелонефритом после однократного в/в введения 0,06% раствора ГН, а именно: после короткой иммуносупрессии, на 7-10 сутки контроля во всех субпопуляциях абсолютное число лимфоцитов превышало исходные значения на 5-21%.

Таблица 3

Динамика данных иммунного статуса у больных с острым пиелонефритом после одного сеанса НЭХО крови 0,06 % раствором ГН (M=M±σ), группа №2.

Показатель	Норма	До сеанса НЭХО крови	После сеанса НЭХО крови	1-е сутки	3-4-е сутки	7-10-е сутки
Лейкоциты, ×10 ⁶ /л	4000-9000	10725±1676	9633±907	11225±5070	9133±1890	8400±2384
Лимфоциты, ×10 ⁶ /л	1200-3000	2022±1411	1751±1350	1687±962	2133±1527	2377±1112
В-лимфоциты, ×10 ⁶ /л	100-500	149±91	146±79	105±52*	133±70	157±78**
Т-лимфоциты, ×10 ⁶ /л	800-2200	1568±1096	2062±2189	1293±705	1700±1010	1876±838**
Т-хелперы, ×10 ⁶ /л	600-1600	828±628	804±636	621±303	905±574	912±500**
Т-цитотоксичес-кие клетки, ×10 ⁶ /л	300-800	708±458	513±392	659±423	645±472	888±373
Иммунорегуляторный индекс	1–2,5	1,2±0,5	1,4±0,6	0,95±0,5	1,3±0,7	1,1±0,6
Естественные киллерные клетки, ×10 ⁶ /л	150-600	250±234	221±129	246±252	336±299	317±239***
НК-Т-клетки, %	1-5	6,9±4,2	5,2±4,3	7,7±4,6	6,1±3,8	7,9±5,1
Активированные Т-лимфоциты (CD3+ DR+), %	1-5	6,4±6,3	7,7±5,2	8,4±5,0	9,1±3,8	11,0±5,8***
Клетки CD3+ CD25+, %	1-5	4,6±1,5	4,2±1,3	3,9±1,6	5,6±2,6	5,9±3,3

* - различие достоверно по сравнению с исходными данными (p<0.05)

** - различие достоверно по сравнению с 1 сутками наблюдения (p<0.05)

Применяя ГН в клинической практике, мы получаем возможность, подобно глюкокортикоидам, ограничивать чрезмерно активированные клеточные и гуморальные факторы защиты неспецифической резистентности, давая возможность приобретенному (адаптивному) иммунитету проявиться в полной мере спустя 3-5 суток после развития инфекции: антителообразование, иммунный фагоцитоз, киллерная функция лимфоцитов.

Выводы

ГН обладает кратковременным, управляемым, дозозависимым иммунодепрессивным эффектом в отношении моноцитов, лимфоцитов и нейтрофилов. ГН способен ограничивать клеточные и гуморальные факторы защиты в условиях чрезмерной микробной нагрузки у больных с острым пиелонефритом и клиническими проявлениями синдрома системного воспалительного ответа. ГН вызывает активацию иммунной системы после однократного воздействия на 3-4-е и 7-10-е сутки, которая выражается в увеличении количества всех субпопуляций лимфоцитов на 5-21%, усилением пролиферативной активности лимфоцитов на 28% и достоверным увеличением эффекторной функции активированных Т-лимфоцитов в 1,72 раза.

Список литературы

1. Федоровский Н.М. Непрямая электрохимическая детоксикация: Пособие для последипломной подготовки врачей. М.: «Медицина», 2004. 144 с.

2. Лопаткин Н.А., Лопухин Ю.М. Электрохимическое окисление. В кн.: Эфферентные методы в медицине. М. 1989. С. 320-338.

3. Основы иммунологии. В кн.: Иммунология и аллергология (цветной атлас): учебное пособие для студентов медицинских вузов (под ред. А.А. Воробьева, А.С. Быкова, А.В. Караулова). М.: практическая медицина. 2006. С. 17-110.

4. Гипохлорит натрия в лечении гнойных ран. Петросян Э.А., Сергиенко В.И., Кулаев Г.К. и др. / Вестник хирургии им. И.И.Грекова. 1991. том 146. № 1 С. 40-43.

5. Петросян Э.А., Сергиенко В.И. Повышение антимицробной активности некоторых антибиотиков при комбинированном применении с активными формами кислорода (ОСI-). / Актуальные вопросы абдоминальной хирургии.: Тез. докл. Ленинград. 1989. С. 99-100.

6. Сергиенко В.И., Петросян Э.А., Ханферян Р.А. Регуляция иммунной системы активными формами кислорода (ОСI -). Нарушение механизмов регуляции и их коррекция.: Тез. докл. IV Всесоюзного съезда патофизиологов. Кишинев. 1989. С. 292.

7. Лыткин М.И., Костин Э.Д. Клиника и диагностика септического шока. В кн.: Септический шок. Ленинград. «Изд. Медицина». 1980. С. 87.

8. Федоровский Н.М., Гостищев В.К., Долина О.А. Методика непрямо́й внутривенной электрохимической детоксикации в комплексном лечении синдрома эндотоксикации. // Вестник интенсивной терапии. - 1993. - № 1. - С. 31-33.

9. Козлов В.К. Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии. Киев: «АННА-Т», 2007. 296 с.

**REGULATION OF THE IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS WITH ACUTE PYELONEPHRITIS
 IN THE PARENTERAL ADMINISTRATION OF 0.06% SODIUM HYPOCHLORITE SOLUTION**

**V. V. IVASCHENKO, I. V. CHERNYSHEV, A. A. KALABEKOV, M. V. GREBENKIN,
 A. V. IVASCHENKO, L. M. NIKONOVA**

Samara State Medical University, Samara

Information about the authors:

Chernyshev Igor Vladislavovich – doctor of Medical Science, a professor, the Head of Urology Department in FGBU «Combined hospital with policlinics» Administrative Department of the President of the Russian Federation, e-mail: ivchernyshev@fgu-obp.ru

The article is devoted to study the effect of sodium hypochlorite (GN) on the regulation of the immune response in patients with acute pyelonephritis and systemic inflammatory response syndrome. Clinical studies have shown that GBV has a short, manageable, dose-dependent immunosuppressive effect on monocytes, lymphocytes and neutrophils. GBV can limit cellular and humoral factors of immune protection in conditions of excessive microbial load in patients with acute pyelonephritis and clinical manifestations of systemic inflammatory response syndrome. GBV causes activation of the immune system after a single exposure to 3-4 and 7-10-th day, which is reflected in the increase in the number of all subpopulations of lymphocytes in 5-21%, increased proliferative activity of lymphocytes at 28%, and significant in-crease in the effector function of activated T lymphocytes 1.72 times.

Key words: sodium hypochlorite, indirect electrochemical oxidation of blood, acute pyelonephritis, immunity.