

Влияние микробных факторов на стабильность коллоидных свойств мочи при уrolитиазе

А.В. Четвериков², Е.Т. Голощапов¹, С.Х. Аль-Шукри¹, В.Л. Эмануэль¹

¹ ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

² СПб ГБУЗ «Городская больница 15», Санкт-Петербург, Россия

Сведения об авторах:

Четвериков А.В. – врач-уролог, ГБУЗ Городская больница 15 Санкт-Петербурга, andrey-chetverikov@mail.ru, AuthorID 473672

Chetverikov A.V. – urologist, City hospital No 15, St Petersburg, andrey-chetverikov@mail.ru, ORCID 0000-0002-1749-8584

Голощапов Е.Т. – д.м.н., профессор кафедры урологии, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»

Минздрава России, goloshapov@mail.ru, AuthorID 299654

Goloshapov E.T. – Dr. Sc., professor of Department of urology, Academician I.P. Pavlov First St Petersburg State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, goloshapov@mail.ru

Аль-Шукри С.Х. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой урологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»

Минздрава России, al-shukri@mail.ru, AuthorID 85626

Al-Shukri S.Kh. – Dr. Sc., Professor, Head of Department of urology, Academician I.P. Pavlov First St Petersburg State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation,

al-shukri@mail.ru, ORCID 0000-0002-4857-0542

Эмануэль В.Л. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет

имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, vladimirem1@gmail.com, AuthorID 128639

Emanuel V. L. – Dr. Sc., Professor, Head of the Department of clinical laboratory diagnostics, Academician I.P. Pavlov First St Petersburg State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian

Federation, vladimirem1@gmail.com

Патогенетический подход к метафилактике мочевого камнеобразования является одной из важных проблем урологии ввиду распространенности уrolитиаза, роста заболеваемости, трудности выбора метода лечения. При этом, особенно важно и то, что общая заболеваемость за последние 12 лет увеличилась более чем в 1,5 раза [1,2].

В настоящее время нет единого взгляда на патогенез камнеобразования в почках, что, несомненно, тормозит успешное проведение профилактики мочекаменной болезни.

Имеющиеся теории объясняют отдельные звенья в цепи факторов, приводящих к формированию мочевого камня [3-5]. Известно более 200 различных патологических состояний, которые могут сопровождаться образованием конкрементов в органах мочевой системы [6,7].

В последние годы обнаружена взаимосвязь между развитием уrolитиаза и метаболическим синдро-

мом с его характерными признаками – ожирением, сахарным диабетом, артериальной гипертензией, которые также считаются важными факторами риска развития мочекаменной болезни (МКБ) [8-11]. Используя комплексный подход к изучению проблемы формирования мочевого камня, уrolитиаз в настоящее время стали относить к почечным проявлениям метаболического синдрома [4]. Являясь коллоидным раствором, моча содержит высокомолекулярные вещества (белки, полисахариды), обеспечивающие ее стабильность. Дестабилизация коллоидов мочи приводит к формированию конкрементов [12-14]. Основным стабилизатором коллоидных свойств мочи является уромулин (белок Тамма-Хорсфалла – БТХ), который является почечным гликопротеином наиболее часто представленным белком мочи [15,16]. Ингибирующее действие БТХ на процессы роста кристаллов в моче связано с наличием на его поверхности сиаловых кислот, которые определяют наличие отрицательного заряда молекулы. Отмечена за-

щитная роль уромулина и в воспалительных процессах. За счет своей структуры БТХ связывает маннозо-зависимые фимбрии инфекционных агентов, что блокирует контакт бактерий с уротелиоцитами [17]. При определенных обстоятельствах БТХ может стать промотором уrolитиаза [18]. Суточная продукция БТХ составляет 50–150 мг, что определяет его низкую концентрацию в моче. При изменении рН мочи происходит изменение структуры БТХ, что соответственно снижает его функциональную активность. Имеются сведения, что у больных с системным уrolитиазом определяются мегамолекулярные комплексы БТХ со средним размером более 1000 нм, при том что у здоровых людей размер составляет 110-115 нм [19,20]. Взаимосвязь камнеобразования и инфекционных агентов за последние годы достаточно изучена, введено понятие «инфекционные камни» [21,22]. Инфекционное влияние может рассматриваться в качестве патогенетического фактора в развитии МКБ. Наиболее часто инфици-

рование патогенными бактериями происходит по восходящему пути (*Escherichia coli*, *Enterococcus spp.*, *Candida spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium urealyticum*, *Proteus spp.*), но иногда нельзя исключить и гематогенный занос бактерий из других инфекционных очагов в организме (*Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenza* и др.) [23,24].

Таким образом, если рассматривать БТХ как протективный компонент мочевыводящего тракта, важным аспектом данной проблемы является выяснение взаимосвязи бактериальной инфекции и ее роли в литогенезе. Поэтому комплексная оценка микробиоты мочи и ее влияния на состояние уромодулина должна привести к улучшению качества проводимой метафилактики уролитиаза.

Цель работы: установить наличие и характер взаимосвязи различных микробных ассоциаций с изменением количественных и качественных отклонений в структуре белка Тамма-Хорсфалла для оптимизации лечения и метафилактики у больных уролитиазом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под наблюдением находилось 273 пациента с МКБ – 144 (52,8%) мужчин и 129 (47,2%) женщин, возраст пациентов варьировался от 21 до 76 лет. Рецидивирующее течение уролитиаза отмечалось у 131 пациента (47,9%), у 210 (76,3%) он был односторонний, а у 63 (23%) – билатеральный. Исследовано 492 компонента, 198 (40,2%) удалены оперативно и 294 (59,8 %) отошли пос-

ле литокинетической терапии. Контрольную группу составили 35 практически здоровых лиц.

У пациентов, наряду со стандартным клиническим исследованием, определялась микробиота мочевых камней и мочи с использованием газовой хроматографии – масс-спектрометрии с определением микробных маркеров бактерий (в т.ч. анаэробных), вирусов, грибов, общее число проб – 104. Для изучения мегамолекулярных комплексов белка Тамма-Хорсфалла, уровня и структуры уромодулина использовали метод динамического светорассеивания при программируемом ее охлаждении (273 пробы). Мочевые камни были исследованы методом электронно-эмиссионной микроскопии на наличие наночастиц.

Полученные данные при уролитиазе и лиц контрольной группы подвергли статистической обработке.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГхМС) определен микробный пейзаж мочи, который представлен большой группой микроорганизмов (вирусов, бактерий, грибов) представляющих облигатных патогенов, факультативных и транзиторных микроорганизмов. Определено, что в моче группы контроля общая бактериальная нагрузка составляет 2362 ± 1125 к.ед, а из 57 изучаемых микробных маркеров не выявлено 26 (45,6%). Микробиота мочи у пациентов с системным уролитиазом характеризуется крайне высокой общей бакте-

риальной нагрузкой, которая составила 82715 ± 20547 к.ед, а у пациентов с односторонним уролитиазом этот показатель был ниже и определяется в интервале 21419 ± 8017 к.ед. (рис. 1).

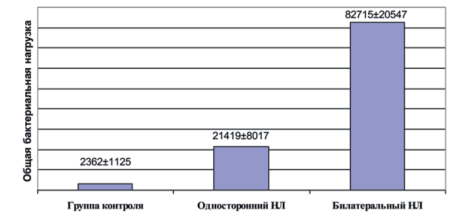


Рис. 1. Сравнительная характеристика общей бактериальной нагрузки в исследуемых группах (к.ед)

Результаты исследования показали, что наиболее часто встречающимися представителями микробиоты мочи у больных уролитиазом по данным ГхМС являются *Aspergillus spp.*, *Herpes simplex*, *Streptococcus mutans*, *Clostridium (ramosum, difficile, coccoides)*, *Nocardia asteroides*, *Klebsiella* (табл. 1).

Персонифицировать конкретного возбудителя в процессах литогенеза довольно трудно по причине того, что некоторые микроорганизмы могут пассивно интегрироваться в его структуру в процессе формирования мочевого камня.

При изучении электронно-микроскопической структуры мочевых камней, наночастицы выявлены во всех камнях независимо от химического состава (рис. 2).

Таким образом, кальцифицирующие наночастицы можно считать структурами, непосредственно участвующими в мочевом камнеобразовании. Учитывая тот факт, что микробные структуры влияют на

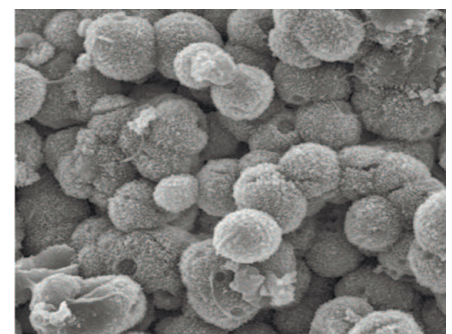


Рис. 2. Электронно-эмиссионная микроскопия (x 10 000. 15 kv). Наночастицы в мочевом камне

Таблица 1. Наиболее часто встречающиеся микробные ассоциации в моче у больных уролитиазом

Микроорганизм	Частота
<i>Clostridium (perfringens, ramosum, tetani)</i>	68 %
<i>Streptococcus/Ruminococcus, Str. Mutans</i>	46 %
<i>Aspergillus spp.</i>	42%
<i>Nocardia asteroides</i>	41 %
Вирус простого герпеса	39 %
<i>Bifidobacterium</i>	36 %
<i>Eubacterium, Eubacterium lentum (gp. A)</i>	34 %

кислотность мочи и структуру уромодулина, мы применили метод динамического светорассеивания при программируемом охлаждении пробы мочи с целью определения размера комплексов белка Тамма-Хорсфалла.

При исследовании выявлено, что у пациентов с односторонним нефролитиазом средний размер частиц БТХ составил $172,8 \pm 6,2$ нм, у больных с билатеральной формой заболевания

$1518,4 \pm 12,3$ нм, в то время как этот показатель у лиц контрольной группы составил $111,4 \pm 4,8$ нм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушение коллоидных свойств мочи, сопровождающееся изменением структуры БТХ, с образованием мегамолекулярных комплексов, сочетается с высокой микробной нагрузкой, установленной с по-

мощью масс-спектрометрии. Это приводит к формированию центров кристаллизации с последующим камнеобразованием.

В комплексе метафилактики и профилактики уролитиаза целесообразно применять противомикробные средства (уросептики) не только с целью снижения риска развития инфекционно-воспалительных осложнений, но и для повышения стабильности коллоидных свойств мочи. ■

Ключевые слова: мочекаменная болезнь, микробиота мочевых камней, белок Тамма-Хорсфалла.

Key words: urolithiasis, urinary stone microbiota, Tamm-Horsfall protein.

DOI: 10.29188/2222-8543-2019-11-2-80-83

Резюме:

При использовании метода газовой хроматографии-масс-спектрометрии микробиота мочи и мочевых камней представлена облигатными, факультативными и транзитными микроорганизмами. Общая бактериальная нагрузка у пациентов с уролитиазом, особенно с системными формами заболевания, значительно выше, чем у представителей группы контроля.

Одним из основных стабилизаторов коллоидной системы мочи является белок Тамма-Хорсфалла (БТХ). При изменении микробиоты мочи и увеличении общей бактериальной нагрузки происходит нарушение структуры БТХ с формированием мегамолекулярных комплексов. Отмечено, что у пациентов с мочекаменной болезнью размер мегамолекулярных комплексов в 10 раз больше, чем у здоровых лиц в контрольной группе.

В комплекс мер проводимой профилактики и метафилактики уролитиаза целесообразно применение противомикробной терапии уросептиками, что позволит воздействовать на количественные и качественные показатели микробного спектра, а также улучшить стабильность коллоидных свойств мочи.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Summary:

The influence of microbial factors on the stability of the colloidal properties of urine in urolithiasis

A.V. Chetverikov, E.T. Goloshchapov, S.Kh. Al-Shukri, V.L. Emanuel

When using the method of gas chromatography-mass-spectrometry of urine microbiota and urinary stones presented obligate, facultative and transient microorganisms. The total bacterial load of patients with urolithiasis, especially with systemic forms of the disease, is much higher than in representatives of the control group.

One of the main stabilizers of the colloidal system of urine is the Tamm-Horsfall protein (THP). When the microbiota of urine changes and increase the total bacterial load it leads to a violation of the structure of the THP with formation of megamolecular complexes. Noted that patients with urolithiasis size megamolecular complexes in 10 times more, than at healthy persons in the control group.

In the complex of measures for the prevention and metaphylaxis of urolithiasis, it is advisable to use antimicrobial therapy with uroseptics, which will affect the quantitative and qualitative indicators of the microbial spectrum, as well as improve the stability of the colloidal properties of urine.

Author declare lack of the possible conflicts of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аполихин О.И., Сивков А.В., Комарова В.А., Просянных М.Ю., Голованов С.А., Казаченко А.В., и др. Заболеваемость мочекаменной болезнью в Российской Федерации (2005-2016 годы). *Экспериментальная и клиническая урология* 2018;(4): 4-14.
2. Каприн А.Д., Аполихин О.И., Сивков А.В., Москалева Н.Г., Солнцева Т.В., Комарова В.А. Анализ уронефрологической заболеваемости и смертности в Российской Федерации за 2003-2013 г. *Экспериментальная и клиническая урология* 2015;(2): 4-12.
3. Вошула В.И., Ниткин Д.М., Лелюк В.Ю., Гапоненко А.Д., Щавелева М.В., Юрага Т.М., Владимирская Т.Э. Статистика и факторы риска мочекаменной болезни в Беларуси. *Экспериментальная и клиническая урология* 2013;(2):18-25.
4. Гаджиев Н.К., Малхасян В.А., Мазуренко Д.А., Гусейнов М.А., Тагиров Н.С. Мочекаменная болезнь и метаболический синдром. Патопатология камнеобразования. *Экспериментальная и клиническая урология* 2018;(1): 66-75. doi 10.29188/2222-8543-2018-9-1-66-75
5. Prezioso D, Strazzullo P, Lotti T, Bianchi G, Borghi L, Caione P, et al. Dietary treatment of urinary risk factors for renal stone formation. A review

ЛИТЕРАТУРА

- of CLU Working Group. *Arch Ital Urol Androl* 2015; 87(2):105-120. doi: 10.4081/aiua.2015.2.105
6. Назаров Т. Х., Тагиров Н. С., Васильев А. Г., Маджидов С. А., Ахмедов М. А. Современные аспекты этиологии и патогенеза мочекаменной болезни. *Педиатр* 2014;5(3):101-109.
7. Leanez Jiménez M, Candau Vargas-Zúñiga F, Reina Ruiz C. Urinary lithiasis as a systemic disease. *Arch Esp Urol* 2017;70(1):28-39.
8. Гусакова Д.А., Калинин С.Ю., Камалов А.А., Тишова Ю.А. Факторы риска развития мочекаменной болезни у больных с метаболическим синдромом. *Экспериментальная и клиническая урология* 2013;(2): 61-64.
9. Sakhaee K. Epidemiology and clinical pathophysiology of uric acid kidney stones. *J Nephrol* 2014; 27 (3):241-245. doi: 10.1007/ s40620-013-0034-z.
10. Голованов С.А., Сивков А.В., Анохин Н.В., Дрожжева В.В. Индекс массы тела и химический состав мочевых камней. *Экспериментальная и клиническая урология* 2015;(4): 94-99.
11. Wong Y, Cook P, Roderick P, Somani BK. Metabolic syndrome and kidney stone disease: a systematic review of literature. *J Endourol* 2016;30(3):246-53. doi: 10.1089/end.2015.0567.
12. Ланда С.Б., Аль-Шукри С.Х., Горбачев М.И., Егоров В.В., Эмануэль Ю.В., Эмануэль В.Л. Патохимические особенности олигомерных форм белка Тамма-Хорсфалла при уролитиазе. *Клиническая лабораторная диагностика* 2016;(6):17-23.
13. Голощапов Е.Т., Аль-Шукри С.Х., Эмануэль В.Л. Современные представления о патогенезе мочевого камнеобразования. *Урологические ведомости* 2015;5(1): 95-96.
14. Singh VK, Rai PK. Kidney stone analysis techniques and the role of major and trace elements on their pathogenesis: a review. *Biophys Rev* 2014; 6(3-4): 291-310. doi: 10.1007/s12551-014-0144-4.
15. Rampoldi L. The rediscovery of uromodulin (Tamm-Horsfall protein): from tubulointerstitial nephropathy to chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2011; 80(4):338-47.
16. Голощапов Е.Т. Прогнозирование и доклиническая диагностика риска мочевого камнеобразования с использованием биофизических технологий. *Урологические ведомости* 2016;6(2):11-15.
17. Голощапов Е.Т., Аль-Шукри С.Х., Четвериков А.В., Турсунов А. Микробиом мочи и конкрементов при рецидивирующем уролитиазе. *Урологические ведомости* 2019;9(Специальный выпуск):31-32.
18. Zasloff M. Antimicrobial peptides, innate immunity, and the normally sterile urinary tract. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18(11): 2810-2816.
19. Aggarwal KP, Narula S, Kakkar M, Tandon C. Nephrolithiasis: molecular mechanism of renal stone formation and the critical role played by modulators. *Biomed. Res Int* 2013;2013:292953. doi: 10.1155/2013/292953.
20. Аль-Шукри С.Х., Горбачев М.И., Голощапов Е.Т. Значение исследования белка Тамма-Хорсфалла у больных с билатеральным рецидивирующим нефролитиазом. *Нефрология* 2013;17(2):101-103.
21. Ланда С.Б., Аль-Шукри С.Х., Горбачев М.И., Егоров В.В., Эмануэль Ю.В., Эмануэль В.Л. Патохимические особенности олигомерных форм белка Тамма-Хорсфалла при уролитиазе. *Клиническая лабораторная диагностика* 2016;(6):335-342.
22. Schwaderer AL, Wolfe AJ. The association between bacteria and urinary stones. *Ann Transl Med* 2017;5(2):32. doi: 10.21037/atm.2016.11.73
23. Miano R, Germani S, Vespasiani G. Stones and urinary tract infections. *Urol Int* 2007;79(1): 32-36.
24. Диденко Л.В. К вопросу об инфекционном генезе камней почек (электронно-микроскопическое исследование). *Урология* 2012;(3):4-7.

REFERENCES (1-3, 7-9, 11, 13)

1. Apolikhin O.I., Sivkov A.V., Komarova V.A., Prosyannikov M.Yu., Golovanov S.A., Kazachenko A.V., Nikushina A.A., Shaderkina V.A. Zabolevaemost mochekamennoy boleznnyu v Rossijskoy Federacii (2005-2016 gody). [Urolithiasis in the Russian Federation (2005-2016)]. *Экспериментальная и клиническая урология* 2018;(4):4-14. (In Russian)
2. Kaprin A.D., Apolihin O.I., Sivkov A.V., Moskaleva N.G., Solnceva T.V., Komarova V.A. Analiz uronefrologicheskoy zabolevaemosti i smertnosti v Rossijskoy Federacii za 2003-2013 g. [Analysis of uronefrological morbidity and mortality in Russian Federation for 2003-2013]. *Экспериментальная и клиническая урология* 2015;(2):4-12. (In Russian)
3. Voshchula V.I., Nitkin D.M., Lelyuk V.YU., Gaponenko A.D., Shchhaveleva M.V., Yuraga T.M., Vladimirskaia T.E. Statistika i faktory riska mochekamennoy boleznny u Belarusi. [Statistics and risk factors for urolithiasis in Belarus]. *Экспериментальная и клиническая урология* 2013;(2):18-25. (In Russian)
4. Gadzhiev N.K., Malhasyan V.A., Mazurenko D.A., Gusejnov M.A., Tagirov N.S. Mochekamennaya boleznny metabolicheskij sindrom. Patofiziologiya kamneobrazovaniya. [Urolithiasis and metabolic syndrome. The pathophysiology of stone formation]. *Экспериментальная и клиническая урология* 2018;(1):66-75. doi 10.29188/2222-8543-2018-9-1-66-75. (In Russian)
6. Nazarov T. H., Tagirov N. S., Vasil'ev A. G., Madzhidov S. A., Ahmedov M. A. Sovremennye aspekty etiologii i patogenezu mochekamennoy boleznny. [Modern aspects of the etiology and pathogenesis of urolithiasis]. *Pediatr* 2014;5(3):101-109. (In Russian)
8. Gusakova D.A., Kalinchenko S.YU., Kamalov A.A., Tishova YU.A. Faktory riska razvitiya mochekamennoy boleznny u bol'nyh s metabolicheskim sindromom. [Risk factors for the development of the urolithiasis in patients with the metabolic syndrome]. *Экспериментальная и клиническая урология* 2013;(2):61-64. (In Russian)
10. Golovanov S.A., Sivkov A.V., Anohin N.V., Drozhzhzheva V.V. Indeks massy tela i himicheskij sostav mochevyh kamney. [Body-mass index and chemical composition of urinary stones]. *Экспериментальная и клиническая урология* 2015;(4):94-99. (In Russian)
12. Landa S.B., Al'-SHukri S.H., Gorbachev M.I., Egorov V.V., Emanuel' Yu.V., Emanuel' V.L. Patohimicheskie osobennosti oligomernyh form belka Tamma-Horsfalla pri urolitiazе. [Pathochemical features of oligomeric forms of the Tamma-Horsfall protein in urolithiasis]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* 2016;(6):17-23. (In Russian)
13. Goloshchapov E.T., Al'-SHukri S.H., Emanuel' V.L. Sovremennye predstavleniya o patogenezе mochevogo kamneobrazovaniya. [Modern ideas about the pathogenesis of urinary stone formation]. *Urologicheskie vedomosti* 2015;5(1):95-96. (In Russian)
16. Goloshchapov E.T. Prognozirovanie i doklinicheskaya diagnostika riska mochevogo kamneobrazovaniya s ispolzovaniem biofizicheskikh tekhnologiy. [Prediction and preclinical diagnosis of the risk of urinary stone formation using biophysical technologies]. *Urologicheskie vedomosti* 2016;6(2):11-15. (In Russian)
17. Goloshchapov E.T., Al'-SHukri S.H., CHetverikov A.V., Tursunov A. Mikrobiom mochi i konkrementov pri recidiviruyushchem urolitiazе. [Microbiome of urine and stones with recurrent urolithiasis]. *Urologicheskie vedomosti* 2019;9(Specialnyy vypusk):31-32. (In Russian)
20. Al'-SHukri S.H., Gorbachev M.I., Goloshchapov E.T. Znachenie issledovaniya belka Tamma-Horsfalla u bolnyh s bilateral'nym recidiviruyushchim nefrolitiazom. [The value of the study of the Tamm-Horsfall protein in patients with bilateral recurrent nephrolithiasis]. *Nefrologiya* 2013;17(2):101-103. (In Russian)
21. Landa S.B., Al'-SHukri S.H., Gorbachev M.I., Egorov V.V., Emanuel' Yu.V., Emanuel' V.L. Patohimicheskie osobennosti oligomernyh form belka Tamma-Horsfalla pri urolitiazе. [Pathochemical features of oligomeric forms of the Tamma-Horsfall protein in urolithiasis]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* 2016'(6):335-342. (In Russian)
24. Didenko L.V. K voprosu ob infekcionnom geneze kamney pochek (elektronno-mikroskopicheskie issledovanie). [On the question of the genesis of infectious kidney stones (electron-microscopic study)] *Urologiya* 2012;(3):4-7. (In Russian)