

УДК: 616.2:576.8.097.21

## ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ УРОПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ *ESHERICHIA COLI* И НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИХ НИВЕЛИРОВАНИЯ В АКУШЕРСКОЙ ПРАКТИКЕ

ЖАВЧЕНКО И.А.

г. Киев

Бактериальные инфекции являются наиболее частыми заболеваниями человека.

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) относятся к числу наиболее распространенных инфекционных заболеваний - 60–70% от всех заболеваний мочевыводящих путей являются одной из ведущих причин снижения качества жизни, инвалидизации [6, 7].

Особое значение приобретают ИМП в период беременности, т.к. они осложняют само течение периода гестации и состояние женщины, а также являются фактором риска для развития внутриутробного инфицирования плода. Проявлению ИМП на фоне беременности способствуют изменения иммунологического и гормонального статуса женщины в этот период [1, 3]. Значимость данной проблемы и действия врачей при ИМП у беременных регламентированы приказом МЗ Украины № 906 от 27.12.2006 г. «Перинатальные инфекции».

Еще Р.Р. Вреден в 1893 году в опубликованном классическом труде «К этиологии цистита» указывал, что инфекция является необходимым фактором для возникновения ИМП и, в частности цистита, при условии наличия ряда дополнительных, благоприятных моментов. Развитие ИМП есть результат преобладания вирулентности этиологического инфекционного фактора над защитными механизмами мочевыводящей системы. Для возникновения ИМП недостаточно присутствия инфекционного возбудителя – необходимо наличие структурных, морфологических и функциональных изменений в органах мочевыводящей системы [7]. Инфицирование мочевого пузыря является только предпосылкой к воспалению, развитие же воспалительного процесса происходит при нарушении структуры и функции органа.

Слизистая оболочка мочевого пузыря имеет множество механизмов, защищающих ее от проникновения инфекции. Такие как фагоцитарная активность слизистой мочевого пузыря, гидродинамическая защита, ночное концентрирование мочи, антиадгезивное действие мукополисахаридного слоя уротелия, выработка слизи периуретральными железами с бактерицидными свойствами, высокая осмолярность мочи, слущивание эпителиальных клеток мочевого пузыря, антибактериальная активность некоторых ингредиентов мочи.

Мочевой пузырь очищается от микрофлоры путем регулярного смывания и удаления с мочой. Естественным барьером для проникновения микроорганизмов из мочеиспускательного канала в мочевой пузырь является регулярное, достаточно интенсивное его опорожнение при скорости движения мочевого потока по уретре, равной 180–310 см/сек, чем достигается быстрое механическое очищение уретры от бактериальной флоры. Считается, что при несостоятельности этих защитных механизмов возникает цистит. Во время беременности развиваются физиологические препятствия в виде увеличенной в размере беременной матки, что при определенных условиях приводит к активации ИМП. При неповрежденном эпителии с нормальной функцией детрузора микроорганизмы не приводят к возникновению цистита и выделяются в течение 3 дней.

Согласно современным воззрениям, воспаление – реакция организма на чужеродные микроорганизмы и корпускулярные продукты тканевого распада. Это основной механизм врожденного и приобретенного иммунитета. Процесс имеет защитно-приспособительный характер, направлен на уничтожение агента, вызвавшего повреждение, и восстановление поврежденной ткани. В развитии инфекционного процесса различают следующие основные этапы: адгезия, инвазия, колонизация, пролиферация, повреждение тканей хозяина.

Первым этапом взаимодействия микроорганизмов и человека является адгезия микробов к клеткам эпителия, опосредуемая специфическими бактериальными структурами – адгезинами. После адгезии нормальный ток мочи или слизи не смывает бактерии. Резуль-

татом адгезии микроорганизмов к поверхности эпителия является его колонизация. При отсутствии вирулентности микроорганизмов колонизация клинически не проявляется. Симптоматика может проявляться при колонизации условно-патогенными микроорганизмами эпителия мочевыводящих путей кишечной палочкой и протеем, повышенная способность уропатогенных штаммов которых к адгезии рассматривается как фактор вирулентности.

В период между начальной адгезией и развитием инфекции макроорганизм с помощью различных защитных механизмов в мочевом пузыре пытается удалить проникшие клетки. В ответ на проникновение уропатогенных бактерий и их адгезию к эпителиальным клеткам макроорганизм включает универсальный защитный механизм – апоптоз пораженных клеток, их слущивание с последующим удалением при мочеиспускании. Элиминация микроорганизмов с мочой является защитным механизмом, препятствующим развитию воспалительных заболеваний в нижних мочевых путях. Бактерии, успевшие проникнуть в более глубокие слои и находящиеся в биопленке, избегают процесса апоптоза. Инфицированные поверхностные эпителиальные клетки («зонтичные» клетки уротелия) слизистой мочевого пузыря включают продукцию цитокинов – ИЛ-6 и ИЛ-8, которые привлекают в очаг воспаления лейкоциты. Таким образом объясняется появление лейкоцитурии при ИМП. Уропатогенные штаммы *E.coli* способны формировать биопленки (микроколонии) на слизистой оболочке мочевого пузыря и внутри эпителиальных клеток. Бактерии, формирующие биопленку, значительно отличаются от планктонных (свободно плавающих) микробных клеток, они более устойчивы к факторам окружающей среды, антибиотикам. Биопленки при электронной микроскопии имеют вид гладких коконообразных выпячиваний на поверхности слизистой оболочки мочевого пузыря, внутри которых располагаются встроенные в цитоплазматический матрикс бактерии. Микроорганизмы, образующие биопленку, обладают устойчивостью (рефрактерностью) к 3–10-дневным курсам антимикробной терапии.

При нарушении барьерных функций эпителия или механизмов общей и местной резистентности происходит инвазия патогенных бактерий в уроэпителиальные клетки и близлежащие ткани.

Считается, что развитию ИМП препятствуют:

- анатомическая и функциональная сохранность детрузора;
- регулярное и полное опорожнение мочевого пузыря;
- целостность эпителиального покрова;
- местная иммунологическая защита.

Частому развитию ИМП у женщин предрасполагает малая длина уретры, ее близость к анальному отверстию. Резервуаром инфицирования мочевого пузыря является микрофлора прямой кишки. В основном это условно-патогенные микроорганизмы семейства энтеробактерий.

В развитии ИМП играют роль ряд факторов. Главные из них – вирулентность возбудителя и восприимчивость человека. Частым микроорганизмом, колонизирующим влагалище, периуретральную область и уретру, является кишечная палочка (*E.coli*- 75-90% случаев), а именно ее уропатогенные штаммы - УПЭК[6].

Исходя из этих данных, представляет интерес рассмотрение вопроса об особенностях строения, функционирования и факторах вирулентности данного микроорганизма в развитии ИМП, в том числе и во время беременности.

*E.coli* – факультативно-анаэробный компонент нормальной толстокишечной флоры (до  $10^8$  КОЕ/г) семейства энтеробактерий, которая способствует стимуляции иммунореактивности организма за счет постоянного раздражения системы локального иммунитета [4, 8]. Кроме того, отдельные эшерихии способны синтезировать витамины группы В и К, антибактериальные вещества (микроцины и колицины), короткоцепочные жирные кислоты. Однако при снижении популяции и ослаблении протекторных свойств облигатных сахаролитических микробов концентрация клеток *E.coli* может резко увеличиваться, проявляя целый ряд патогенных свойств [4].

*E.coli* обладают широким спектром ферментативных свойств и, в отличие от других факультативных анаэробов, - гемопротеинами (цитохромами и каталазой), могут активно

развиваться и получать энергию как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Это объясняет уникальный адаптивный механизм этих микроорганизмов и их способность быстро реагировать на изменения условий жизни. Способность *Escherichia coli* реализовывать аэробный механизм, имеющий значительные энергетические и биосинтетические преимущества перед анаэробным, определяет постоянное стремление эшерихий мигрировать в зоны обитания, содержащие кислород [4, 8, 9].

Одной из наиболее серьезных опасностей, является способность этих микроорганизмов мигрировать в мезентериальные лимфатические узлы и кровь, что сопровождается инфицированием паренхиматозных органов (печень, почки, селезенка, мозг, легкие) с развитием многочисленных экстраинтестинальных инфекций (сепсис, менингит, пиелонефрит, перитонит и пр.) [4]. Чаще всего транслокация эшерихий имеет место при массивной антибиотикотерапии, химиотерапии, гормональной и иммунодепрессивной терапии, подавляющей индигенную флору и способствующей селективной пролиферации *coli*-бактерий с высокой лекарственной резистентностью [8].

Соотношение между отдельными кластерами эшерихий зависит от микрoэкологической ситуации в кишечнике. При снижении концентрации и активности индигенной микрофлоры в популяции эшерихий могут произойти изменения, способствующие увеличению клонов облигатных и потенциальных патогенов. Опасность таких микробиологических нарушений становится очевидной, принимая во внимание чрезвычайно широкий спектр факторов вирулентности *E. coli*: эндо- и экзотоксины, цитотоксины, факторы адгезии, колонизации и инвазии, антилизоцимная и антикомплементарная активность, способность подавлять фагоцитоз, гистоповреждающие ферменты и метаболиты, гемолиз, резистентность к лекарственным препаратам, способность клеток к L-трансформации, синтез колицинов и др. Причем многие из перечисленных свойств кодируются плазмидами и могут легко передаваться близкородственным особям, формируя обширную популяцию агрессивной по отношению к хозяину флоры [4, 8, 10].

Все перечисленное в полной мере относится и к уропатогенным штаммам кишечной палочки (УПЭК). Как уже отмечалось, более 85 % первичных пиогенных уропатий, так называемых «бытовых» инфекций регистрируются у практически здоровых людей (чаще у женщин – в 14 раз) вне госпитальных условий, что связано с кишечной палочкой. Уропатогенные штаммы *E. coli* имеют ряд особенностей, которые повышают их адаптацию к условиям мочевыводящего тракта и наделяют пиогенной агрессивностью, т.е. способностью индуцировать гнойное воспаление [2]. Уропатогенные штаммы кишечной палочки принадлежат к ограниченному числу O-групп: O1, O4, O6 и O18. Кроме того, они лучше приспособлены к размножению в мочевом пузыре, оперативно экспрессируя ряд генов, индуцируемых мочой.

Прикрепление к уроэпителию связано с адгезинами, оформленными в виде фимбрий/пилей 1. Они закодированы в плазмидах и/или сегментах хромосомы, именуемых островами патогенности. Здесь же находятся гены, детерминирующие другие признаки вирулентности (синтез сидерофоров, цитотоксинов и пр.). Обнаружено около десятка островов патогенности (размером от 25 до 190 kb), которые разбросаны по хромосоме и неодинаково представлены среди уропатогенных штаммов [2, 8]. Они определяют фенотипические особенности эшерихий, подтверждая обоснованность их патогенетической классификации. Главной разновидностью пилей, специфичных для уропатогенных эшерихий, являются P-фимбрии. Они отсутствуют у комменсальных и диареогенных штаммов и получили свое название (акроним) из-за того, что чаще обнаруживаются у штаммов, ассоциированных с пиелонефритом. P-фимбрии представлены многочисленными антигенными вариантами, которые связываются с одним и тем же гликофинголипидным рецептором. Его специфика определяется глобобиозой (дисахарид галактозы:  $\alpha$ -D-Gal-(1,4)- $\alpha$ -D-Gal), а заякоривание на клеточной мембране – церамидом. Было установлено, что при взаимодействии с маннозными радикалами уроплакинов (мукозальных гликопротеинов мочевого пузыря) фимбрии типа 1 инициируют внутриэпителиальную инвазию бактерий. Это может содействовать персистенции уропатогенных эшерихий, предрасполагая к рецидивам. Принципиально, что образование фимбрий типа 1 подвержено фазовым вариациям, возрастая в мочевыводящем тракте [2, 4]. Подобно P-фимбриям, фимбрии типа 1 побуждают уроэпителиоциты

к продукции провоспалительных цитокинов, принимая участие в реализации пиогенного потенциала эшерихий. Однако, в отличие от Р-фимбрий, которые являются обязательным (или по крайней мере важным) атрибутом пиелонефритогенности *E. coli*, фимбрии типа 1 чаще обнаруживаются у штаммов, вызывающих цистит. Это согласуется с особенностями рецепторного аппарата эпителиоцитов почек и мочевого пузыря, которые оказывают влияние на взаимодействие с бактериальными адгезинами [4]. Не исключено, что фиксацию бактерий в разных отделах мочевыделительного тракта определяют разные адгезины или их активность неодинакова. При этом ассортимент патогенетически значимых адгезинов уропатогенных эшерихий не исчерпывается Р-фимбриями и фимбриями типа 1 [2].

УПЭК, кроме всего прочего, вырабатывают сидерофоры, играющие важную роль в захвате железа для бактерий во время или после колонизации. Для выживания этих бактерий необходима цитоплазматическая концентрация железа около  $10^{-6}$  М, которую они обеспечивают с помощью сидерофоров. Бактерии получают железо через рецепторы, облегчающие транспорт комплексов сидерофор-железо через бактериальную мембрану в цитозоль, где оно высвобождается. В противовес данному механизму, организм хозяина может ограничивать поступление железа в бактериальные клетки за счет хелатных соединений внутреннего железа и трансферрина. Наиболее активным сидерофором УПЭК выступает энтеробактин, конкурирующий именно с трансферрином за связывание и транспортировку железа. В последнее время идентифицирован такой белок в организме хозяина, как липокалин 2 (также известный как желатиназо-нейтрофильно связанный липокалин, сидерокалин, 24p3, или утерокалин), который выступает в качестве контрмеры для борьбы с энтеробактином [10].

Особого внимания в клинической практике заслуживают ситуации, когда в дисбиотические процессы вовлекаются органы и системы, в норме не предполагающие наличие микрофлоры. Таковой является мочевыделительная система. Однако, достаточно часто встречаются случаи бессимптомной бактериурии и других инфекционных поражений в этой сфере организма беременных. В таких ситуациях, в отличие от органов, где в норме существуют микроорганизмы и возможна коррекция их состава без применения антибиотиков (кишечник, влагалище), применение антимикробных средств является обязательным. Доказана эффективность применения фосфомицина, нитрофурантоина, полусинтетических пенициллинов и цефалоспоринов у беременных с проявлениями инфекций мочевыводящей системы [9], однако с дополнительной лечебной и профилактической целью показано применение нового комбинированного фитопрепарата ТУТУКОН, производства Laboratoire Miquel Garriga S.A. по заказу компании «Гранд Медикал Групп АГ» (Швейцария). Препарат является гидролатом, получаемым посредством дистилляции 8 лекарственных растений высокотехнологичными методами, которые гарантируют высокую концентрацию всех активных ингредиентов. В его состав входят: Хвощ полевой (стебель) 570 мг, Торичник красный 330 мг, Болдо (листья) 280 мг, Опунция (кактус) инжирная (цветки) 170 мг, Железница узколистная 170 мг, Розмарин лекарственный 170 мг, Бермудская трава (пальчатник) 170 мг, Мелисса лекарственная 170 мг.

Данная комбинация составляющих определяет его фармакологические свойства: антимикробное, противовоспалительное, антиоксидантное, диуретическое, уrolитическое, спазмолитическое.

Антибактериальное действие Тутукона обусловлено входящими в состав активными веществами. Фталиды, флавоноиды, фенилкарбоновая кислота, эфирные масла нарушают функциональную и структурную целостности мембран микробной клетки в экспоненциальной фазе роста. Органические кислоты (аконитовая, яблочная, щавелевая) изменяют рН мочи, опосредованно оказывая антибактериальный эффект. Дубильные вещества уплотняют эпителий и не позволяют болезнетворным микроорганизмам проникать в почечные ткани.

Активные вещества Тутукона проявляют мощное антиоксидантное действие, поскольку флавоноиды обладают способностью инактивировать радикалы  $OH$  и  $O_2$  путем образования комплексов, их активность в плане «ликвидации» гидроксильных радикалов повышается с увеличением количества гидроксильных групп в кольце. Флавоноиды обеспечивают повышенную защиту клеток, а также стимулируют восстановление ДНК, поврежденной окислением свободных радикалов.

Лимонная кислота является блокирующим катализатором свободно-радикального окисления за счёт образования комплексов с металлами переменной валентности. Механизм действия лимонной кислоты связан с увеличением синтеза высокоэнергетического соединения аденозин-трифосфата (АТФ), торможением гликолиза и активизацией аэробных процессов в клетках. Также лимонная кислота способствует стабилизации клеточных мембран, что предотвращает потерю ферментов.

Диуретическое действие: эфирные масла лекарственных растений, расширяют сосуды почек, что способствует улучшению кровоснабжения почечного эпителия, а также оказывают влияние на процессы обратного всасывания клетками почечных канальцев. Это проявляется главным образом в уменьшении реабсорбции ионов натрия и соответствующего количества воды. Диуретическое действие фенолкарбоновых кислот объясняется осмотическим эффектом: при попадании в просвет почечных канальцев они создают высокое осмотическое давление (обратному всасыванию эти вещества не подвергаются), при этом значительно снижается реабсорбция воды и ионов натрия. Таким образом, увеличение выведения воды происходит без нарушения ионного баланса (калийсберегающий эффект).

Тутукон улучшает кровоснабжение, увеличивает скорость клубочковой фильтрации, уменьшает реабсорбцию натрия и способствует увеличению канальцевой секреции калия, что способствует восстановлению нормального диуреза и уменьшению количества остаточной мочи.

Противовоспалительное действие обеспечивается биофлавоноидами, обладающими способностью ингибировать липоксигеназу, и за счет антиоксидантного свойства. Свободные радикалы, забирая электрон, изменяют молекулу клеточных мембран и запускают каскад воспалительных реакций. С одной стороны, благодаря наличию гидроксильных групп биофлавоноиды являются ловушками уже образовавшихся свободных радикалов. С другой стороны, биофлавоноиды способны связывать ионы металлов, не давая им запустить каскад свободнорадикальных реакций. Флавоноиды образуют комплексы с клеточными мембранами патогенных микроорганизмов, тем самым оказывая прямое бактерицидное и фунгицидное действие. Кроме того, флавоноиды путем ингибирования активности липоксигеназы и связывания прооксидантных металлов переменной валентности ( $Fe^{2+}$ / $3^{+}$ ) оказывают выраженное противовоспалительное и антиоксидантное действие в очаге поражения.

Спазмолитическое действие Тутукона, обусловлено действием нескольких активных веществ в разных точках возникновения спазма: болдин (активное вещество лекарственного растения болдо, входящего в состав препарата, алкалоид изохинолинового ряда) блокирует связь М-холинорецепторов с ацетилхолином, кальций при этом не поступает в клетку, в результате снижается тонус и расслабляется гладкомышечная клетка. Вследствие этого снижается тонус мышечного волокна, снимается спазм и расширяется мочеточник. Кроме того, эфирное масло Melissa расслабляет вызванный катехоламинами спазм гладкой мускулатуры, а ментол рефлекторным путём за счёт раздражения рецепторов слизистых оболочек также оказывает умеренное спазмолитическое действие.

Исходя из такого комплекса положительных воздействий при инфицировании мочевого тракта, показаниями к применению Тутукона могут служить: - профилактика обострений хронических инфекций мочевыводящих путей (ИМП); - профилактика развития ИМП, в т.ч. после инструментальных вмешательств (эндоскопические, рентгенологические, гинекологические исследования); - острые и хронические ИМП, - ИМП беременных; - асимптоматическая бактериурия, в т.ч. у беременных; - профилактика образования мочевых конкрементов при увеличении рН мочи, в т.ч. после их удаления.

Тутукон благодаря своим лечебным и профилактическим свойствам может использоваться у беременных с ИМП как для профилактики рецидивов, так и в дополнение к антибиотикотерапии при необходимости ее длительного проведения.

Проведенные клинические исследования доказали эффективность данного препарата при урологических инфекциях. Так, по данным исследования Медицинского центра Акушерства и Гинекологии МЗ РУз, произошло значительное снижение микробного числа в исследованиях мочи у беременных с ИМП на фоне применения Тутукона с одновременным улучшением биохимических показателей (креатинин), повышением минутного диуреза и клубочковой фильтрации, снижением уровня лейкоцитурии и быстрым улучшением кли-

нической симптоматики [9]. Таким образом, данный уросептик не только снижает риск рецидивирования ИМП, но и улучшает урологический комфорт при лечении ИМП.

### Выводы

В защите макроорганизма от патогенного воздействия УПЭК основную роль выполняет иммунная система в кооперации с ассоциированной с ней физиологической индигенной микрофлорой. Таким образом, фенотипический полиморфизм популяций *E. coli*, удивительная пластичность структурного и энергетического метаболизма этих бактерий, позволяющая им быстро адаптироваться к новым условиям жизни, высокая естественная резистентность к лекарственным препаратам и способность увеличивать ее путем приобретения плазмид от других резистентных бактерий, заставляет с большим вниманием относиться к увеличению популяции эшерихий в биотопах организма, что часто наблюдается при ослаблении иммунных свойств организма (в частности, при беременности). Исходя из сказанного, особую актуальность для клиницистов приобретают уроантисептики природного происхождения, как дополнение к традиционной в этих случаях антибиотикотерапии, позволяющее закрепить положительный результат лечения ИМП и обеспечить стойкий профилактический эффект.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Гребельная Н.В. Проблемы инфекций мочевыводящих путей у женщин // Український медичний альманах. – 2004, Т.7. - № 5. – С. 201-203.
2. Маянский А.Н. Цитокины и медиаторные функции уроэпителия в воспалительных реакциях мочевыводящей системы // Цитокины и воспаление. – 2003 - № 4. – С. 1-8.
3. Медведь В. І., Ісламова О. В., Наконечна І. В. та ін. Частота та фактори ризику хронізації патології нирок після перенесеного гестаційного пієлонефриту // Перинатологія та педіатрія. – 2001. – № 4. – С. 13–15.
4. Медична мікробіологія, вірусологія, імунологія / за ред. акад. В.П.Широбокова / Видання 2-е. – Вінниця: Нова Книга, 2011. – 952 с.
5. Наказ МОЗ України № 906 від 27.12.2006 р. про затвердження клінічного протоколу з акушерської допомоги «Перинатальні інфекції». – К., 2006. – 12 с.
6. Урологические инфекции / под. ред. N.Grabe. – Европейская ассоциация урологов, 2011. – 115 с.
7. Циститы (учебное пособие) / Скрыбин Г.Н., Александров В.П., Кореньков Д.Г., Назаров Т.Н. – С.-Пб, 2006. – 127 с.
8. Широбоков В.П., Янковский, Дымент Г.С. Микробная экология человека. – К.: ООО «Червона Рута-Турс», 2010. – 340 с.
9. Отчет о клиническом применении препарата тутукон в лечении беременных с инфекцией мочевыводящих путей МЗ Республики Узбекистан: Ташкент, 2011.
10. Travis J. Wiles, Richard R. Kulesus, Matthew A. Mulvey. Origins and Virulence Mechanisms of Uropathogenic *Escherichia coli* // Exp. Mol. Pathol. - 2008, August - 85(1): 11–19.