

© Степанова Н.М., Сташевська Н.В., Лебідь Л.О., Колесник М.О., 2017

УДК: 616.633.461.2: 616.61-002.3]-036

Н. СТЕПАНОВА, Н. СТАШЕВСЬКА, Л. ЛЕБІДЬ, М. КОЛЕСНИК

**ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОБІОТИКУ З ЛАКТОБАКТЕРІЯМИ У ЗНИЖЕННІ ЕКСКРЕЦІЇ
ОКСАЛАТУ ТА ПРОФІЛАКТИЦІ РЕЦИДИВУЮЧОГО ПІЄЛОНЕФРИТУ**

N. SEPANOVA, N. STASHEVSKA, L. LEBID, M. KOLESNYK

**EFFECTS OF LACTIC ACID BACTERIA PROBIOTIC ON URINARE OXALATE EXCRETION AND
PREVENTION OF RECURRENT PYELONEPHRITIS**

ДУ «Інститут нефрології НАМН України»

SI «Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences»

Ключові слова: рецидивуючий пієлонефрит, гіпероксалурія, лактобактерії, лікування.**Keywords:** recurrent pyelonephritis, hyperoxaluria, lactic acid bacteria, treatment.**Резюме.** Дане дослідження було проведено для оцінки здатності пробіотику із вмістом лактобактерій знижувати екскрецію оксалату та запобігати рецидивуванню пієлонефриту.**Методи.** Відкрите, 6-місячне рандомізоване контрольоване дослідження за участю 80 жінок з рецидивуючим пієлонефритом, обумовленого *E. coli* або *S. faecalis*. Після основного курсу лікування пацієнтки були рандомізовані до 2 груп: I група (n = 40) приймала пробіотик Symbiform®, II група (n = 40) отримувала оксалатно-розчинний рослинний засіб Уронефрон. Пробіотик призначався у дозі 1 саше 2 рази на день протягом перших 5 днів, після чого доза зменшувалась до 1 саше на добу на протязі місяця. Уронефрон® призначався у дозі 3 таблетки на добу на протязі місяця. Ефективність запропонованих заходів оцінювали через 1 та 6 місяців лікування.**Результати.** Через 1 місяць після закінчення лікування культуральне дослідження мікробіоти товстої кишки продемонструвало підвищення рівня *Lactobacillus* spp. у 35/40 (87,5 %) пацієнток I групи та у 6/40 (15%) жінок II групи ($\chi^2 = 41,5$; $p < 0,0001$). Рівні добової екскреції оксалату статистично значимо знижувались у пацієнток обох груп: $117,6 \pm 11,7$ проти $71,9 \pm 10,07$ мг/д ($p < 0,0001$) та $122,02 \pm 17$ проти $84,8 \pm 9,8$ мг/д ($p < 0,0001$), відповідно до I та II груп.Через 6 місяців спостереження принаймні 1 рецидив пієлонефриту спостерігався у 2/40 (5 %) жінок групи пробіотику та у 9/40 (22,5 %) пацієнтів II групи ($\chi^2 = 5,1$; $p = 0,02$).**Висновки.** Застосування пробіотику Сімбіформ із вмістом лактобактерій у жінок з рецидивуючим пієлонефритом збільшує кількісний вміст *Lactobacillus* spp. у кишечнику, знижує добову екскрецію оксалату з сечею та кількість рецидивів захворювання.**Summary.** The present study was performed to evaluate the ability of *Lactobacillus* probiotics to reduce the urinary oxalate excretion level and prevent recurrent pyelonephritis.**Methods.** The open, 6 months randomized controlled trial was followed up. 80 women with recurrent pyelonephritis, caused by *E. coli* or *S. faecalis*, were randomly allocated into 2 groups. The 1st Group (n = 40) took Symbiform® which contained acidophilic and plantar *Lactobacilli*, *Lactococci* (*lactis* and *cremoris*), *Bifidobacteria* (*adolescentis* and *bifidum*) and thermophilic non-pathogenic *Streptococcus*. The 2nd one (n = 40) received oxalate-soluble herbal remedy Uronefron® containing 188 mg of dry extract from 9 plants. Probiotic was prescribed in a dose of 1 sachet 2 times a day during the first 5 days, followed by a dose reduction of 1 sachet per day for a month. Uronefron® was prescribed in a dose of 3 pills a day for a month.**Results.** 1 month after the end of the treatment, microbiological studies of the colon microflora demonstrated the increasing level of *Lactobacillus* spp. colonization more than 7 million CFU / 1 g of faeces: 35/40 (87.5 %) in the patients of the 1st Group vs 6/40 (15 %) in the women of the comparison Group ($\chi^2 = 41.5$; $p < 0.0001$).The levels of daily urinary oxalate excretion were significantly decreased in both groups: the patients of Probiotic Group: 117.6 ± 11.7 vs 71.9 ± 10.07 mg/d after the treatment ($p < 0.0001$) and 122.02 ± 17 vs 84.8 ± 9.8 mg/d ($p < 0.0001$) in the women of the 2nd Group, respectively.In the 6 months preceding randomization, at least 1 recurrence of pyelonephritis occurred in 2/40 (5 %) women of the Probiotic Group and 9/40 (22.5 %) in the patients of Group II ($\chi^2 = 5,1$; $p = 0,02$).**Conclusions.** The use of *Lactobacillus* probiotics in non-stone formers women with recurrent pyelonephritis increases the quantitative content of *Lactobacillus* spp. in the gut, reduces daily urinary oxalate excretion and the number of pyelonephritis recurrences.Степанова Наталя Михайлівна
nmstep@ukr.net**ВСТУП.** Основою лікування хворих на рецидивуючий пієлонефрит (рПН) є антибактеріальна терапія [9]. Разом з тим, її відомі побічні ефекти та

формування бактеріальної резистентності обґрунтовують необхідність мінімізації застосування антибактеріальних лікарських засобів (АЛЗ) та удосконалення альтернативних підходів до лікування і профілактики рПН [9, 15]. Профілактика рПН із застосування АЛЗ для з одного боку, запобігає рецидиву, але з іншого – порушує кількісний та якісний склад мікробіоти кишківника з наступним формуванням гіпероксалурії [1, 4, 18-20].

Результати наших попередніх досліджень визначили значну поширеність (> 80%) гіпероксалурії у жінок з рПН [1, 4, 19]. Порушення мікрофлори кишківника з подальшим розвитком дисбіозу з одного боку є основним джерелом інфікування сечової системи, з іншого – призводить до посиленого всмоктування оксалатів та набутої кишкової гіпероксалурії. Депозиція кристалів у проксимальних ниркових каналцях, у свою чергу, викликає хронічне запалення з формуванням фіброзу [7, 12], що може бути самостійним фактором ризику рецидивуючого перебігу захворювання.

Загальні принципи лікування гіпероксалурії, незалежно від її генезу, включають в себе споживання рідини не менше, ніж 1,5 л на м² площі поверхні тіла на добу, діету з низьким вмістом оксалату і відносно високим вмістом кальцію, лікарські засоби для збільшення розчинності кристалів оксалату та лікування пробіотиками [7, 10, 16]. Слід зазначити, що жоден з цих підходів не був перевірений у рандомізованих контрольованих дослідженнях [16].

Для збільшення розчинності кристалів оксалату зазвичай використовують рослинні лікарські засоби, такі як уронефрон, флавія, канефрон та інші. Одним з комбінованих фітопрепаратів нового покоління є Уронефрон. В склад засобу входить дев'ять натуральних рослинних компонентів: лущиння цибулі, коріння пирію, листя берези, насіння пажитника, коріння петрушки, трава золотарника, трава хвоща польового, гірчака пташиного, коріння любистку [5]. Даний фітокомплекс володіє протизапальною, сечогінною, спазмолітичною та антимікробною діями [2, 5].

Слід відзначити, що рослинні компоненти, які входять до складу препарату, містять похідні флавону, інозит, сапоніни та силікати. Даний рослинний засіб попереджає кристалізацію мінеральних компонентів у сечових шляхах, позитивно впливає на збереження рівноваги між колоїдами та кристалоїдами сечі [2, 5]. Результати клінічних досліджень продемонстрували, що застосування препарату у комплексному лікуванні хворих на сечокам'яну хворобу (СКХ) з ПН сприяє більш швидкому та ефективному зменшенню запалення і зниженню бактеріурії у порівнянні з традиційною терапією [2, 5].

Ефективність пробіотиків у лікуванні гіпероксалурії широко обговорюється у науковій літературі, але результати залишаються суперечливими [6, 14, 16, 17]. Більшість експериментальних та

поодиноких клінічних досліджень демонструють ефективність застосування Oxadrop®, який містить 2×10^{11} *Lactobacillus acidophilus*, *L. brevis*, *Streptococcus thermophilus* та *Bifidobacterium infantis* й окремих штамів *Lactobacillus* (*L. paracasei*, *L. gasseri*, *L. acidophilus*) у зниженні екскреції оксалату [8, 14, 17]. Проте, незважаючи на обнадійливі результати експериментальних досліджень, більшість клінічних робіт вказують на відсутність будь-якого впливу пробіотиків на рівень оксалурії [15, 16]. Разом з тим, деякі з досліджень, присвячених впливу лактобактерій на оксалатдеградуючу здатність, продемонстрували їх достовірну ефективність [8, 11].

Отже, ефективність застосування оксалатдеградуючих бактерій у зменшенні рівня оксалурії залишається не доведеною. Проте, цілком можливо, що пробіотики є ефективними у певній категорії хворих з кишковою гіпероксалурією, зокрема у пацієнтів з антибіотик-індукованим порушенням мікробіоти кишківника [11-13].

Враховуючи відсутність на фармакологічному ринку України Oxadrop® та експериментально доведену оксалатдеградуючу активність *Lactobacillus spp.* ми використовували Симбіформ.

Симбіформ є пробіотичною харчовою добавкою вітчизняного виробника, яка застосовується з метою нормалізації кишкової мікрофлори після використання антибіотиків, а також після хімічної або променевої терапії; має менший негативний вплив на кишкову флору, ніж інші пробіотики і не містить умовно-патогенних мікроорганізмів. До його складу входить 5 видів лактобактерій (ацидофільні і плантарні лактобацили, лактококи *lactis* та *cremoris*), біфідобактерії (*adolescentis* і *bifidum*) та термофільний непатогенний стрептокок. Наявність імунодефіцитних станів будь-якого генезу у показаннях до застосування Симбіформу та відсутність побічних ефектів обумовили наш вибір.

Таким чином, відсутність науково-обґрунтованої інформації щодо ефективності застосування лактобактерій у лікуванні гіпероксалурії та профілактиці рПН визначає актуальність виконання даного дослідження, його мету і завдання.

МЕТОЮ роботи було дослідити здатність пробіотику Симбіформ знижувати екскрецію оксалату та запобігати рецидивуванню ПН.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ. Відкрите проспективне рандомізоване дослідження за участю 80 пацієнток з рПН, віком $34,6 \pm 13,7$ років. Період спостереження склав 6 місяців. Критеріями включення пацієнток до дослідження були:

- наявність клінічних ознак рецидиву хронічного пієлонефриту (підвищення температури тіла, відчуття болю та важкості у косто-verteбральному куті, дизурія та інші);
- ідентифікація бактеріального збудника у сечі;
- лейкоцитурія;
- підписання пацієнткою інформованої згоди на участь у дослідженні.

Критеріями виключення пацієнок із дослідження були:

- цукровий діабет;
- вагітність;
- лактація;
- СКХ;
- обструкція сечової системи;
- діагностована інфекція, що передається статевим шляхом (сечостатевий уреоплазмоз, хламідіоз, тощо);
- пухлини нирок та сечових шляхів;
- хронічна хвороба нирок III-V стадій (ШКФ <60 мл/хв/1,75 м²);
- наявність супутніх декомпенсованих захворювань або гострих станів.

Протокол дослідження був схвалений локальною етичною комісією ДУ «Інститут нефрології НАМН України». Під час виконання роботи дотримані принципи біоетики, законодавчих норм та вимог щодо проведення біомедичних досліджень.

Верифікація діагнозу базувалась на оцінці скарг, даних анамнезу, клініко-лабораторних проявів захворювання та результатах візуалізуючих методів дослідження (ультразвукове дослідження нирок, за необхідності – статична реносцинтиграфія з ^{99m}Tc – ДМСО). Основними етіологічними чинниками рПН були *E.coli* – 36/80 (45%) та *E. faecalis* 22/80 (27,5 %).

За рецидивуючий перебіг захворювання приймали наявність 3 та більше рецидивів пієлонефриту протягом року, за спорадичний перебіг – до 2 загострень на рік.

Гіпероксалурією вважали екскрецією оксалату з сечею понад 44 мг/добу.

Після закінчення основного курсу антибактеріального лікування та підтвердження ерадикації збудників пацієнок було рандомізовано на 2 групи: жінки I групи (n = 40) отримували Симбіформ, II група (n = 40) приймала рослинний оксалат-розчинний засіб Уронефрон.

Симбіформ призначали по 1 саше 2 рази на добу протягом перших 5 діб, попередньо розчинивши вміст у невеликій кількості теплого молока або кип'яченої води кімнатної температури, з наступним зменшенням дози до 1 саше у день на протязі

місяця. Уронефрон призначали згідно інструкції по 1 таблетці 3 р/д на протязі 1 місяця.

Усім хворим була рекомендована дієта з обмеженням харчових продуктів з високим вмістом щавлевої кислоти.

Оцінку запропонованих лікувально-профілактичних заходів проводили через місяць після закінчення основного курсу лікування та через 6 місяців.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програм «Statistica 10,0 for Windows» та «MedCalc» з урахуванням перевірки показників на нормальний розподіл з використанням критерію Колмогорова-Смірнова (dK-S). За умов нормального розподілу оцінювали середні значення показників (M) та середнє квадратичне відхилення (SD); для їх порівняння використовували критерій Ст'юдента (kS). За невідповідності закону нормального розподілу для опису ознаки застосовували медіану (Me) та інтерквартильний розмах [Q25-Q75]; для порівняльного аналізу застосовували непараметричний (U-критерій) Манна-Уїтні.

Міжгруповий аналіз ефективності запропонованих терапевтичних підходів у разі нормального розподілу показників проводили методом дисперсійного аналізу повторних вимірів за допомогою критерію Фішера (F). За розподілу, відмінного від нормального використовували його непараметричний аналог – критерій Краскела-Уоліса (H). Відмінність частот у групах порівнювали за допомогою точного критерію Фішера (χ^2). Відношення шансів (OR) і 95% довірчі інтервали (CI) розраховували з використанням логістичної регресії [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Бактеріологічне дослідження фекалій через місяць після закінчення лікування продемонструвало досягнення оновлення колонізації кишківника лактобактеріями у кількості понад 7 млн КУО /1 г фекалій у 35/40 (87,5 %) пацієнок, які отримували Симбіформ та лише у 6/40 (15 %) жінок групи порівняння ($\chi^2 = 41,5$; $p < 0,0001$). Кількісний аналіз вмісту *Lactobacillus spp.* у складі мікробіоти товстого кишківника пацієнок в динаміці лікування представлено у табл. 1.

Таблиця 1

***Lactobacillus spp.* у складі мікробіоти товстого кишківника хворих на рПН залежно від застосованих підходів до лікування (Me [Q25-Q75])**

Групи спостереження	До лікування (млн КУО/ 1г)	Після лікування (млн КУО/ 1г)	U	p
I (n = 40)	1,25 [0,14-9]	8,9 [7-11,8]	26,5	< 0,0001
II (n = 40)	1,9 [0,9-8,1]	2,1 [1,4-5,85]	191	0,8

Рисунок 1 наочно демонструє збільшення кількості лактобактерій у кишківнику пацієнок I групи і майже повну відсутність відновлення мі-

кробіоти у хворих, які не отримували пробіотик: OR 39,7; 95 % CI (11,06-142,3); $p < 0,0001$.

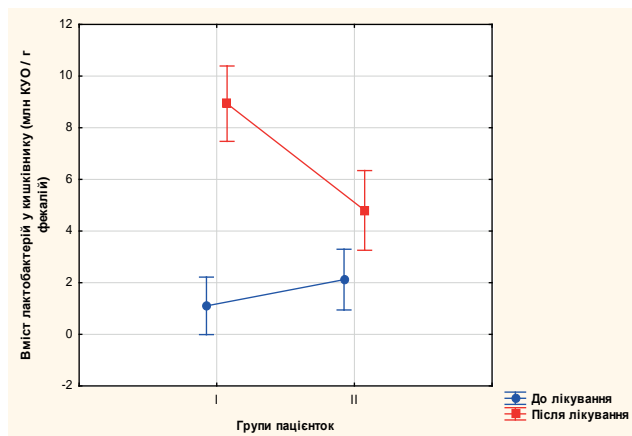


Рис. 1. Медіанний графік вмісту *Lactobacillus spp.* у складі мікробіоти товстого кишківника хворих на рПН в динаміці лікування.

Аналіз середнього рівня оксалурії в динаміці лікування продемонстрував його достовірне зниження з $118,5 \pm 28,4$ до $78,2 \pm 15,2$ мг/д ($p < 0,001$) (рис. 2).

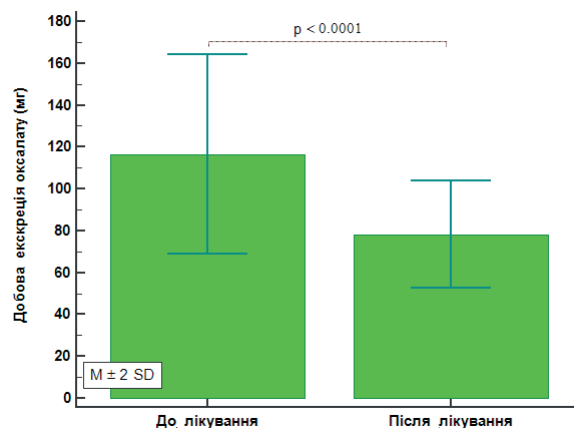


Рис. 2. Рівень оксалурії у хворих на рПН в динаміці лікування.

Призначення як Симбіформу, так і Уронефрону на фоні низько-оксалатної дієти достовірно знижувало рівень оксалурії. Аналіз парних спостережень засвідчив суттєве зниження оксалурії в обох досліджуваних групах, що свідчить про ефективність застосування як лактобактерій, так і оксалат-розчинного засобу (табл. 2).

Таблиця 2

Рівень добової екскреції оксалату з сечею у хворих на рПН залежно від застосованого підходу до лікування (M \pm SD)

Групи спостереження	До лікування	Після лікування	kS	p
I (n = 40)	$117,6 \pm 11,7$	$71,9 \pm 10,07$	8,2	$< 0,0001$
II (n = 40)	$122,02 \pm 17$	$84,8 \pm 9,8$	6,08	$< 0,0001$

Разом з тим, порівняння значущості різниці між середніми показниками оксалурії за допомогою дисперсійного аналізу продемонструвало статистично значущу відмінність між групами (SS моделі 2678,9; SS залишків 3502; F= 4,7; $p = 0,0002$) (рис. 3).

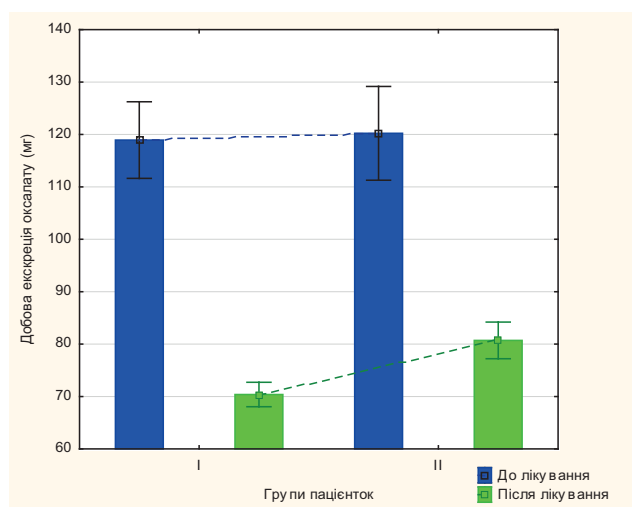


Рис. 3. Графік середнього рівню добової екскреції оксалату в динаміці лікування.

Наступним етапом нашої роботи було визначення впливу запропонованих терапевтичних підходів на зниження частоти рецидивування ПН.

Середня кількість рецидивів через півроку складала $1,6 \pm 0,25$ проти $6,0 \pm 2,9$ до лікування ($p < 0,001$) (рис. 4).

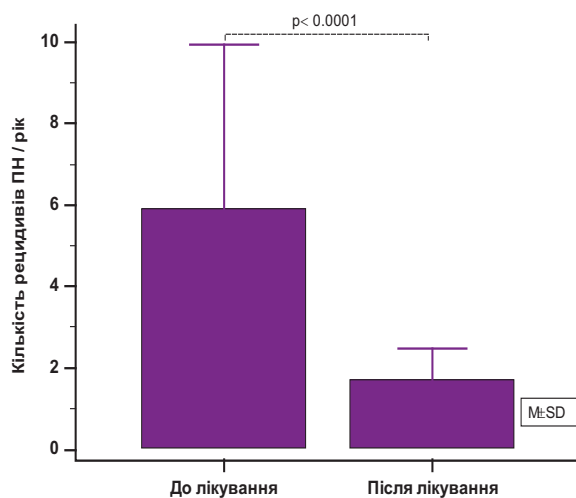


Рис. 4. Середня кількість рецидивів ПН в динаміці лікування.

На протязі 6 місяців спостереження хоча б один рецидив ПН виник у 11/80 (13,7 %) жінок, серед яких 2/40 (5 %) пацієнок I групи, та 9/40 (22,5%) хворих II групи ($\chi^2= 5,1$; $p = 0,02$).

Таким чином, для зниження частоти рецидивування ПН застосування Симбіформу є більш ефективним, ніж застосування Уронефрону.

Будь-яких побічних реакцій та ускладнень зафіксовано не було.

ВИСНОВКИ. Застосування пробіотику Симбіформ статистично значуще підвищує кількісний вміст *Lactobacillus spp.* у складі мікробіоти товстого кишківника хворих на рПН, знижує рівень оксалурії та достовірно зменшує кількість рецидивів захворювання.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Гіпероксалурія та колонізаційна резистентність кишківника у хворих на пієлонефрит з рецидивуючим перебігом / М. Колесник, Н. Степанова, Н. Сташевська, В. Дрияńska // Журнал Національної академії медичних наук України. – 2016. – Т. 22, № 1. – С. 62-69.
2. Литвинова Е. В. Анализ эффективности и фармакоэкономические аспекты применения отечественных фитопрепаратов в профилактике и лечении мочекаменной болезни / Литвинова Е. В. / – Український біофармацевтичний журнал. – 2014. – № 4. – С. 27-32.
3. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М.: Медиасфера, 2003. – 312 с.
4. Ризик зниження *Lactobacillus spp.* у складі мікробіоти кишківника хворих на інфекцію сечової системи, асоційований з прийомом антибактеріальних лікарських засобів / Н. Степанова, Н. Сташевська, Л. Лебідь, С. Савченко, М. Колесник // Український Журнал Нефрології та Діалізу. – 2017. – № 2 (54). – С. 23-26.
5. Топчий И. И., Щербань Т. Д., Семеновых П. С. Терапевтические эффекты фитопрепарата Уронефрон у больных хроническим пиелонефритом в сочетании с мочекаменной болезнью. – Медицинские аспекты здоровья мужчины. – 2012. – № 1 (3). – С. 35-39.
6. Al-Wahsh I. Acute probiotic ingestion reduces gastrointestinal oxalate absorption in healthy subjects / Al-Wahsh I., Wu Y., Liebman M. // Urol. Res. – 2012. – V. – 40 (3). – P. 191-196.
7. Asplin J. R. The management of patients with enteric hyperoxaluria / Asplin J. R. / Urolithiasis. – 2016. – V. – 44 (1). – P.33-43.
8. Di Cerbo A. Mechanisms and therapeutic effectiveness of lactobacilli / Di Cerbo A., Palmieri B., Aponte M., [et al.] // Journal of Clinical Pathology – 2016. –V. 69 (3). – P. 187-203.
9. Guidelines on Urological Infections // M. Grabe (Chairman), M. C. Bishop, T. E. Bjerklund-Johansen [et al.] // European Association of Urology. – 2017.
10. Jiang J. Impact of dietary calcium and oxalate, and Oxalobacter formigenes colonization on urinary oxalate excretion / J. Jiang, J. Knight, L. H. Easter, R. Neiberg [et al.] // J Urol. – 2011. – Vol. 186 (1). – P. 135-139.
11. John C. Lieske. Probiotics for prevention of urinary stones. / John C. Lieske // Annals of Translational Medicine. – 2017. – V. – 5(2). – P. 29.
12. Kamada N. Control of Pathogens and Pathobionts by the Gut Microbiota / Kamada N., Chen G. Y., Inohara N., et al. – 2013. – Nat Immunol. – V. 14 (7). – P. 685-690.
13. Kaufman David W. Oxalobacter formigenes May Reduce the Risk of Calcium Oxalate Kidney Stones / David W. Kaufman, Judith P. Kelly, Gary C. Curhan, Theresa E. Anderson [et al.] // J Am Soc Nephrol. – 2008. – Vol. 19 (6). – P. 1197–1203.
14. Mogna L. Screening of different probiotic strains for their in vitro ability to metabolise oxalates: any prospective use in humans? / Mogna L., Pane M., Nicola S., Raiteri E. // J Clin Gastroenterol. – 2014. – V. 48, Suppl 1. – P. 91-95.
15. Mohsin R. Recurrent urinary tract infections in females / Mohsin R., Mutahir K. S. // J. Pak. Med. Assoc. – 2010. – V. – №. 1. – P. 55-59.
16. Nazzal L. Enteric hyperoxaluria: an important cause of end-stage kidney disease / Nazzal L., Puri S., Goldfarb D. // Nephrol. Dial. Transplant. – 2016. V. – 31 (3). – P. 375-382.
17. Nephropathy in dietary hyperoxaluria: A potentially preventable acute or chronic kidney disease / Glew R. H., Sun Y., Horowitz B. L., et al. // World Journal of Nephrology. – 2014. – V. 3 (4). – P. 122-142.
18. Panda S. Short-term effect of antibiotics on human gut microbiota (Electronic resource) / Panda S., Elkhader I., Casellas F., L pez Vivancos J., [et al.] // PLoS One. – 2014. – V. 9 (4). – Mode of access: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3991704>
19. Stepanova N. Intestinal colonization resistance is associated with hyperoxaluria in the patients with recurrent pyelonephritis / N. Stepanova, M. Kolesnyk, N. Stashevska, V. Driyanska // European Urology Supplements. – 2017. – Vol. 16. – Issue 3. – P. 402-403.
20. The antibiotic prophylaxis affect on the colon Oxalobacter formigenes colonization in patients with recurrent pyelonephritis and hyperoxaluria (pilot study) / N. Stepanova, G. Tolstanova, N. Stashevska, N. Dzyubenko, T. Sergiychuk, I. Akulenko // Nephrol Dial Transplant. – 2017. – V. – 32 (suppl 3). – P. iii432-iii433.

Надійшла до редакції 27.08.2017

Прийнята до друку 24.10.2017