



В.А. Белоглазов, А.В. Климчук

ГУМОРАЛЬНОЕ ЗВЕНО ЭНДОТОКСИНСВЯЗЫВАЮЩИХ СИСТЕМ И УРОВЕНЬ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК НА ГЕМОДИАЛИЗЕ И ПЕРИТОНИАЛЬНОМ ДИАЛИЗЕ

*ФГАОУ ВО «Крымский Федеральный Университет имени В.И. Вернадского»,
Медицинская Академия имени С.И. Георгиевского,
Кафедра внутренней медицины № 2,
295006, Россия, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7.
E-mail: biloglazov@mail.ru, anastasiya-klim@mail.ru*

Цель: изучение гуморального звена эндотоксиновсвязывающих систем и уровня системного воспаления у больных на программном гемодиализе и постоянном амбулаторном перитонеальном диализе.

Материалы и методы: обследованы 16 больных с хронической болезнью почек 5 стадии на постоянном амбулаторном перитонеальном диализе и 62 пациентов на программном гемодиализе. Уровень антител к ЭТ классов G, M, A и C-реактивного белка определялся методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Результаты: установлено, что у больных на перитонеальном диализе имеет место повышение уровня анти-ЭТ-IgG в 4,9 раза и уровня C-реактивного белка в 8,8 раз по сравнению с группой условно здоровых лиц, а уровни анти-ЭТ-IgA и анти-ЭТ-IgM достоверно не отличались показателей нормы. У больных на программном гемодиализе отмечено повышение в 5,6 раз анти-ЭТ-IgG и в 8 раз C-реактивного белка по сравнению с группой здоровых лиц, а уровни анти-ЭТ-IgA и анти-ЭТ-IgM также не отличались от показателей нормы. Уровни антител к ЭТ и C-реактивного белка у больных, находящихся на гемодиализе и на перитонеальном диализе между собой достоверно не отличались.

Заключение: в обеих группах пациентов выявлен повышенный антителный ответ на ЭТ (по высокому уровню анти-ЭТ-IgG) на фоне высокого уровня системного воспаления (по уровню C-реактивного белка), что говорит о наличии хронической эндотоксиновой агрессии у пациентов на диализе.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, диализ, хроническое воспаление, эндотоксин, эндотоксинсвязывающие системы.

V.A. Biloglazov, A.V. Klimchuk

ENDOTOXIN IMMUNITY AND LEVEL OF C-REACTIVE PROTEIN IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE ON HEMODIALYSIS AND PERITONEAL DIALYSIS

*FSAEE AE «Crimean Federal University named after V.I. Vernadsky»,
Medical Academy named after S.I. Georgievsky,
Department of Internal Medicine № 2,
5/7 Lenina boulevard, Simferopol, Russia, 295006.*

Purpose: studying of endotoxin antibodies level of classes G, M, A and level of C-reactive protein at patients on a program hemodialysis and a constant peritoneal dialysis.

Materials and methods: 16 patients with a chronic kidneys disease 5 stage on a peritoneal dialysis and 62 patients on a program hemodialysis are surveyed. Level endotoxin antibody classes G, M, A, and C-reactive protein was determined by ELISA.

Results: it is established that patients on a peritoneal dialysis have level anti-ET-IgG in 4.9 times in comparison with group of conditionally healthy patients, and levels anti-ET-IgA and anti-ET-IgM didn't differ from norm indicators. Also increase of level of C-reactive protein in 8.8 times, in comparison with indicators of healthy donors. At patients on a program hemodialysis increase in 5.6 times anti-ET-IgG, and in 8 times of C-reactive protein in comparison with group of healthy patients. And levels anti-ET-IgA and anti-ET-IgM also didn't differ from norm indicators. Levels of endotoxin antibodies and C-reactive protein at patients on a hemodialysis and on a peritoneal dialysis among didn't differ.

Conclusion: in both groups of patients found an increased antibody response to ET (on a high level of anti-ET-IgG) against the background of a high level of systemic inflammation (at the level of C-reactive protein). There is chronic endotoxin aggression in hemodialysis patients.

Keywords: chronic kidney disease, dialysis, chronic inflammation, endotoxin, endotoxin immunity.



Диализ является в настоящее время основным компонентом комплексной терапии больных терминальной стадией хронической болезни почек (ХБП). Существует две основных группы методов почечной заместительной терапии: гемодиализ (ГД) и перитонеальный диализ (ПД), применяемый в различных модификациях. Для ГД характерна прерывистая терапия, с выраженными колебаниями объемной, биохимической, электролитной и других констант крови, тогда как для ПД характерна непрерывная модальность. Несмотря на принципиальные различия этих методов и на многочисленные технологические достижения в области ГД и ПД на протяжении многих лет смертность пациентов находящихся на разных видах диализа остается удручающе высокой [1]. Некоторые исследования показали, что пятилетняя выживаемость на диализе аналогична таковой среди пациентов с малигнизацией органов [2]. Только некоторые исследования отмечают преимущества ПД для больных ХБП [3]. Главной причиной смерти больных на ГД и ПД являются сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ). Установлено, что хроническое воспаление играет основную роль в развитии атеросклероза и является независимым фактором риска ССЗ и смертности у больных ХБП [4]. Однако причины и пути активации иммунной системы у больных ХБП на ГД и ПД еще до конца не раскрыты.

Эндотоксин (ЭТ) грамотрицательной бактерии, как известно, представляет собой молекулу липополисахарида (ЛПС), входящую в структуру наружной стенки бактерий и является одним из самых сильных провоспалительных стимулов [5]. Транслокация ЭТ из кишечника, который обильно колонизирован грамотрицательными бактериями, имеет широкий спектр эффектов, оказываемых на сердечно-сосудистую систему: запускает системное воспаление, атеросклероз и оксидативный стресс [6]. Однако негативные провоспалительные эффекты воздействия ЭТ могут нивелироваться иммунной системой (в том числе антителами к ЭТ), если её ответ адекватен уровню эндотоксинемии. Исследования продемонстрировали корреляцию между наличием антител к ЭТ и выживаемостью пациентов с грамнегативным сепсисом [7].

Цель исследования – изучение и сравнение уровня антител к ЭТ и системного воспаления по уровню С-реактивного белка (СРБ) у больных на программном ГД и амбулаторном ПД.

Материалы и методы

В условиях отделения интенсивной нефрологии и диализа КРУ «КТМО Университетская клиника» г. Симферополя были обследованы 78 пациентов с ХБП 5 стадии. Из них 16 больных на постоянном амбулаторном ПД в среднем возрасте 41,3±2,3 года, 13 женщин (81%) и 3 мужчин (19%), все пациенты получали ПД 3-4 раза в день. А также 62 пациента, находящихся на программном ГД, средний возраст 45,7±1,6 лет от 18 до 75 лет, 44 женщин (72%) и 18 мужчин (28%). Сеансы программного ГД проводились 3 раза в неделю на аппаратах «искусственная почка» АК-95 (Швеция) и «TINA» (США) с

использованием бикарбонатного буфера и диализатора GFS-16 с мембраной гемофан фирмы «Gambro» (Швеция), длительность сеанса ГД составляла 4-5 часов.

Уровни сывороточных антител к ЭТ классов А, М и G (соответственно анти-ЭТ-IgA, анти-ЭТ-IgM и анти-ЭТ-IgG) и концентрацию СРБ в крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (тИФА) с использованием протоколов, разработанных в отделе клинической иммунологии ЦНИЛ ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского» [8, 9]. Уровни анти-ЭТ-IgM, анти-ЭТ-IgG и анти-ЭТ-IgA выражали в условных единицах оптической плотности конечного продукта ферментативной реакции после проведения тИФА (усл. ед. опт. плотн.), которую определяли с помощью иммуноферментного анализатора StatFax 2100 (Awareness Tech. Inc., USA) при длине волны 492 нм для разведения тестируемой сыворотки крови 1:50. Концентрацию СРБ выражали в мг/л. Контрольную группу составили 38 практически здоровых людей, соответствующих больным ХБП по возрастному диапазону и половому распределению.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием лицензионной программы «MedStat» (серийный №MS0011 ДНПП ТОВ «Альфа», г. Донецьк) для параметрических и непараметрических критериев.

Результаты и их обсуждение

Данные изучения гуморального звена эндотоксинсвязывающих систем и концентрацию в периферической крови СРБ у больных ХБП на ПД и ГД представлены в табл. 1.

Установлено, что у больных ХБП 5 стадии, находящихся на ПД имеется увеличение уровня анти-ЭТ-IgG в 4,9 раза по сравнению с группой условно здоровых лиц ($p < 0,001$), а уровни анти-ЭТ-IgA и анти-ЭТ-IgM достоверно не отличаются от показателей нормы ($p = 0,670$ и $p = 0,880$ соответственно). У этих больных наблюдалось значительное повышение уровня СРБ - в 8,8 раз ($p < 0,001$) по сравнению с показателями здоровых доноров. Также выявлена отрицательная корреляционная связь между СРБ и анти-ЭТ-IgG у больных на ПД: $\text{Tau} = -0,483$, $p < 0,01$.

У больных, получающих программный ГД, также отмечено повышение анти-ЭТ-IgG ($p < 0,001$) в 5,6 раз по сравнению с группой здоровых лиц и в 8 раз СРБ ($p < 0,001$), при достоверно не отличающихся от нормы анти-ЭТ-IgA ($p = 0,613$) и анти-ЭТ-IgM ($p = 0,391$). Между СРБ и анти-ЭТ-IgG у больных на ГД, также как и больных на ПД, существует отрицательная корреляционная связь: $\text{Tau} = -0,352$, $p < 0,01$.

Результаты уровней анти-ЭТ-IgG, анти-ЭТ-IgA, анти-ЭТ-IgM и уровень СРБ у больных находящихся на программном ГД достоверно не отличались от этих показателей у больных на ПД.

Известно, что пациенты с ХБП подвергаются значительной эндотоксинемии. Циркуляторная эндотоксинемия увеличивается с ростом стадии ХБП и её резкий подъем наблюдается у пациентов в терминальной стадии ХБП



Гуморальный антиэндотоксиновый иммунитет и уровень С-реактивного белка у больных ХБП, находящихся на ПД и на ГД

Показатель	Статистический показатель	Норма	Больные ХБП ПД	Больные ХБП ГД
Анти-ЭТ-IgG ед.опт.плот	M ± m n	0,166±0,012 30	0,818±0,085 16 p<0,001	0,929±0,037 62 p<0,001 p _i =0,253
Анти-ЭТ-IgA ед.опт.плот	Me (25% - 75%) n	0,213(0,117 -0,277) 38	0,189 (0,148-0,374) 16 p=0,670	0,173(0,119-0,305) 62 p=0,613 p _i =0,376
Анти-ЭТ-IgM ед.опт.плот	Me (25% - 75%) n	0,244 (0,12-0,34) 38	0,179(0,121-0,377) 16 p=0,880	0,175 (0,109-0,278) 62 p=0,391 p _i =0,564
СРБ мг/л	Me (25% - 75%) n	1,4 (0,6-2) 22	12,3 (2,7-28,6) 16 p<0,001	11,2 (5,6-30,8) 62 p<0,001 p _i =0,440

Примечание: p – достоверность различий с нормой (p<0,05), p_i– достоверность различий между соответствующим показателем больных на ПД и на ГД по W-критерию Вилкоксона для двух независимых выборок; n – количество обследуемых больных.

при начале ГД и обусловлен, по-видимому, индуцированным ГД системным циркуляторным стрессом и рецидивирующей регионарной ишемией, ведущей к увеличению транслокации ЭТ из кишечника. В ряде исследований, выполненных в последние годы, отмечается, выраженная корреляционная взаимосвязь между уровнем ЭТ и объемом ультрафильтрации при ГД, что авторами связывается со значительным снижением перфузии в критических органах, мукозальной и мезентеральной ишемией. У этих больных предиализный ЭТ коррелирует с плазменным сердечным тропонином Т и высокочувствительным СРБ, а эндотоксинемия ассоциируется с системным воспалением и снижением выживания [10]. Известно также, что эндотоксинемия распространена и среди пациентов на ПД. Степень эндотоксинемии у этих больных связана с тяжестью системного воспаления и атеросклероза. Исследования продемонстрировали, что транслокация кишечной флоры является причиной граммотрицательных перитонитов у пациентов с ПД [11]. Исходя из этого, можно судить, что у больных ХБП на ПД, так же как и у пациентов на ГД, присутствует нарушение кишечного барьера, что, в свою очередь, может способствовать транслокации ЭТ и быть одной из причин эндотоксинемии, описанной многими авторами у этой категории пациентов.

Выявленная ассоциация высоких уровней анти-ЭТ-IgG и СРБ у пациентов, получающих программный ГД и ПД, свидетельствует о том, что эндотоксинемия носит хронический характер и, вероятно, вносит свой вклад в развитие системного воспаления у больных терминальной стадией ХБП и, как видно из полученных результатов, не зависит от метода заместительной почечной терапии. Повышение уровня анти-ЭТ-IgG говорит о напряжении иммунитета, однако учитывая повышение СРБ, а также не измененный уровень анти-ЭТ-IgA и анти-ЭТ-IgM в условиях хронической эндотоксинемии у этой категории

больных, продемонстрированной многочисленными исследованиями, эта реакция иммунной системы не является достаточной для блокирования негативных эффектов ЭТ.

Вероятно, развитие методов снижающих уровень ЭТ у этих больных, снижающих транслокацию ЭТ из кишечника и улучшающих его защитный барьера, а также методов повышающих иммунный ответ на ЭТ или блокирующих его пути активации иммунной системы могут привести к контролю над хроническим системным воспалением и улучшению прогноза и качества жизни больных ХБП на диализе.

Выводы

1. У больных ХБП, находящихся на ГД и ПД, выявлено повышение анти-ЭТ-IgG соответственно до 0,929±0,037 ед.опт.пл. и 0,818±0,085 ед.опт.пл. (p<0,001 в обоих случаях) на фоне неизменной концентрации анти-ЭТ-IgA и анти-ЭТ-IgM.
2. У всех больных на ГД и ПД выявлен повышенный уровень СРБ: до 11,2 (5,6-30,8) мг/л у больных на ГД и до 12,3 (2,7-28,6) мг/л у больных на ПД. Существует отрицательная корреляционная связь между СРБ и анти-ЭТ-IgG и у больных на ГД (Tau= - 0,352, p<0,01) и у больных на ПД (Tau= - 0,483, p<0,01).
3. Межгрупповых различий по изучаемым параметрам эндотоксинсвязывающих систем и системного воспаления между больными на ГД и ПД не выявлено.
4. Патогенетически оправданным следует считать разработку методов направленных на уменьшение хронической эндотоксиновой агрессии и системного воспаления у данного контингента больных.



ЛИТЕРАТУРА

- Mehrotra R. Similar outcomes with hemodialysis and peritoneal dialysis in patients with end-stage renal disease. / Mehrotra R., Chiu Y.W., Kalantar-Zadeh K. [et al] // Arch Intern Med – 2011 - №171 – p.110-118.
- Robinson B.M. International haemodialysis patient outcomes comparisons revisited: the role of practice patterns and other factors. / Robinson BM, Port F. // Clin J Am Soc Nephrol – 2009 - № 4 (suppl 1) – p. S12-S17.
- Weinhandl E.D. Propensity-matched mortality comparison of incident haemodialysis and peritoneal dialysis patients. / Weinhandl E.D., Foley R.N., Gilbertson D.T. [et al] // J Am Soc Nephrol – 2010 - № 21 – p.499-506.
- Weiner D.E. Cardiovascular outcomes and all-cause mortality: exploring the interaction between CKD and cardiovascular disease. / Weiner D.E., Tabatabai S., Tighiouart H. [et al] // Am J Kidney Dis – 2006 -№ 48 – p.392-401.
- Barclay G.R. Endotoxin-core antibodies: time for a reappraisal. / Barclay G.R. //Intensive Care Med.- 1999.- Vol.25,№5.- p. 427-429.
- Mayr F.B. Effects of low dose endotoxaemia on endothelial progenitor cells in humans./ Mayr F.B., Spiel A.O., Leitner J.M., [et al] // Atherosclerosis - 2007- № 191- p.e202-e206.
- Xiaoyuan Wang. Endotoxins: Structure, Function and Recognition./ Xiaoyuan Wang, Peter J. Quinn. - Springer Science+Business Media B.V., 2010 – 415 p.
- Гордієнко А.І. Високочутливий імуноферментний метод кількісного визначення змісту С-реактивного білка в крові./ Гордієнко А.І., Білоглазов В.О., Бакова А.А. // Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я №139.- К., УКРМЕДПАТЕНТИНФОРМ, 2010.- 4 с.
- Гордієнко А.І. Патент 70193 А. Спосіб визначення антитіл до ліпополісахаридів грамнегативних бактерій./ Гордієнко А.І., Білоглазов В.О. // Заявл. 29.12. 2003; Опубл.15.09. 2004. - Бюл. №9.
- McIntyre C.W. Circulating endotoxemia: a novel factor in systemic inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease. / McIntyre C.W., Harrison L.E., Eldehni M.T. [et al] // Clin J Am Soc Nephrol. – 2011 - Jan;6(1) – p.133-41.
- Cheuk-Chun Szeto. Endotoxemia is Related to Systemic Inflammation and Atherosclerosis in Peritoneal Dialysis Patients. / Cheuk-Chun Szeto, Bonnie Ching-Ha Kwan, Kai-Ming Chow, [et al] // Clin J Am Soc Nephrol -2008 -№ 3 – p. 431-436.

ПОСТУПИЛА: 20.05.2014

УДК 616.441-006.5:575.174.015.3+577.114:616-092

В.А. Белоглазов, Ю.Ю. Кулагина

С(-159)Т ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА CD14 РЕЦЕПТОРОВ МОНОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ДТЗ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ГУМОРАЛЬНОГО ОТВЕТА НА ЭНДОТОКСИН

*Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»,
Кафедра внутренней медицины №2,
295006, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7.
E-mail: rozhkov_alex@inbox.ru.*

Цель: изучение С(-159)Т полиморфизма гена CD14 рецептора моноцитов у больных диффузным токсическим зобом (ДТЗ) с различным типом гуморального ответа на эндотоксин (ЭТ).

Материалы и методы: содержание антиэндотоксиновых антител класса G (анти-ЭТ-IgG) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Генетический полиморфизм определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Из исследуемых больных ДТЗ были выделены 2 клинические группы: в I группу – антительных гипореспондеров – вошёл 21 человек, имеющий низкий уровень анти-ЭТ-IgG (меньше $M \pm \sigma$ диапазона нормы); во II группу вошло 66 больных с гиперреспондерным (уровень анти-ЭТ-IgG в крови превышал $M \pm \sigma$ от уровня здоровых доноров) и нормореспондерным (уровень анти-ЭТ-IgG в пределах $M \pm \sigma$) гуморальным ответом на ЭТ. Для сравнительного анализа полученных результатов обследовано 33 здоровых донора.

Результаты: у гипореспондеров частота встречаемости аллели Т и аллельного сочетания ТТ достоверно выше, а аллели С и сочетания СС достоверно ниже, чем в группе гипер-/нормореспондеров и в контрольной группе. У носителей гомозиготного сочетания ТТ как в группе гипер-/нормореспондеров и особенно гипореспондеров риск развития ДТЗ достоверно выше, чем у носителей гомозиготного варианта СС.

Ключевые слова: диффузный токсический зоб, генетический полиморфизм, антитела.