

Динамика показателей гуморального антиэндотоксинового иммунитета и уровень С-реактивного белка у больных хронической болезнью почек, находящихся на программном гемодиализе, при четырехлетнем наблюдении

В.А. Белоглазов, А.В. Климчук, А.И. Гордиенко, Д.А. Холодов, И.Е. Усаченко
ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», г. Симферополь, Украина

Dynamics of humoral antiendotoxin immunity parameters and the level of C-reactive protein in patients with chronic kidney disease who are treated by to the program hemodialysis for the four-year supervision

V.A. Beloglazov, A.V. Klimchuk, A.I. Gordienko, D.A. Holodov, I.E. Usachenko
Georgievsky Crimean State Medical University, Simferopol, Ukraine

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, гемодиализ, осложнения, системное воспаление, эндотоксин, антиэндотоксиновый иммунитет, С-реактивный белок.

Принимая во внимание роль системного хронического воспаления в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, являющихся основной причиной смерти диализных больных, и вклада в его развитие бактериального эндотоксина, а также нейтрализующее действие на эндотоксин антиэндотоксинового иммунитета, была проведена данная работа. Целью настоящего исследования явилось изучение динамики показателей антиэндотоксинового иммунитета и уровня С-реактивного белка у больных хронической болезнью почек, находящихся на программном гемодиализе, за четырехлетний период почечной заместительной терапии. Нами были обследованы 46 больных ТХПН, находящихся на программном гемодиализе, в 2007 г. и 32 – в 2011 г., а также проанализированы особенности показателей антиэндотоксинового иммунитета и уровень С-реактивного белка у 7 больных, умерших в течение первого года после начала исследования. Уровни сывороточных антиэндотоксиновых антител классов А, М и G и концентрацию С-реактивного белка в крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. У больных хронической болезнью почек, находящихся на программном гемодиализе и продолжающих лечение в настоящее время, отмечалось повышенное содержание антиэндотоксинового IgG в крови. Кроме этого, у этих больных наблюдалось повышение концентрации С-реактивного белка, уровень которого за четыре года возрос в 4,6 раза ($p < 0,001$). У больных, умерших в течение первого года наблюдения, мы выявили падение уровней сывороточных антиэндотоксиновых IgG и IgM по сравнению с продолжающими лечение больными при повышенной концентрации С-реактивного белка в крови. Такие проявления можно расценивать как предиктор неблагоприятного исхода.

This work is devoted to the role of systemic chronic inflammation in the development of cardiovascular diseases which are the main cause of death of dialysis patients. We were also interesting in the contribution of bacterial endotoxin to the development of system chronic inflammation, as well as neutralizing effect of the antiendotoxin immunity on it. The purpose of this study was to investigate the dynamics of the antiendotoxin immunity indicators and the level of the C-reactive protein in patients with chronic kidney disease on the program hemodialysis. In 2007, 46 patients with chronic kidney disease on program hemodialysis were inspected. Only 32 of them were inspected again in 2011. Also the antiendotoxin immunity indicators and the C-reactive protein level were analyzed in 7 died patients within the first year just after the start of the study. Levels of serum antiendotoxin antibodies of classes A, M and G and the blood concentration of the C-reactive protein were determined by the method of solid-phase enzyme immunoassay. In

Адрес для переписки: Украина, 95006, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7. ГУ «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», кафедра внутренней медицины № 2
Телефон: +38 (0652) 608-598, +38 (0652) 373-530. Белоглазов Владимир Алексеевич
E-mail: anastasiya-klim@mail.ru

patients with the chronic kidney disease on program hemodialysis whose treatment is continued currently, the high level of antiendotoxin IgG in blood was noted. In addition, these patients demonstrated an increase in the concentration of C-reactive protein, its level has increased a factor of 4,6 times ($p < 0,001$) for four years. We found a decrease in the level of serum antiendotoxin IgG and IgM and an increase in the concentration of the C-reactive protein in the patients who died during the first year of the observation. Such manifestations can be regarded as death predictors.

Key words: *chronic kidney disease, hemodialysis, complications, systemic inflammation, endotoxin, antiendotoxin immunity, C-reactive protein.*

Введение

Роль иммунных механизмов в прогрессировании хронической болезни почек (ХБП) в настоящее время вызывает особый интерес исследователей [9, 10]. Системное хроническое воспаление и неадекватный ответ на бактериальную инфекцию являются характерными для больных терминальной стадией хронической почечной недостаточности (ТХПН). И как следствие, главные причины смерти больных на гемодиализе – сердечно-сосудистые и инфекционные заболевания – тесно взаимосвязаны с иммунной дисфункцией. В связи с этим дальнейшее раскрытие патогенетических механизмов формирования системного хронического воспаления при ТХПН создаст реальные перспективы для уменьшения смертности больных ХБП [7].

На роль одного из факторов, участвующих в формировании как локального, так и системного воспаления, вполне может претендовать эндотоксин (ЭТ) или липополисахарид (ЛПС) грамотрицательной микрофлоры.

Известно, что ЭТ высвобождается из грамотрицательной микрофлоры в процессе ее самообновления и в норме является облигатным фактором формирования иммунной системы [13, 17]. При этом патологические эффекты ЭТ связаны с его чрезмерным воздействием на организм и/или дисбалансом эндотоксин-нейтрализующих систем, среди которых важнейшее место занимают естественные антителы гуморальной системы и клеточные рецепторы [18, 20]. При тяжелых бактериальных инфекциях или серьезных нарушениях кишечного барьера большое количество ЭТ может преодолевать биологические барьеры (кишечник, печень) и выявляется в системной циркуляции [12]. У больных ХБП, находящихся на программном гемодиализе (ГД), причинами повышенного поступления ЭТ в организм могут быть очаги грамотрицательной инфекции, контаминация ЭТ диализата, бактериальная транслокация вследствие мукозальной и мезентеральной ишемии, которая развивается под влиянием ультрафильтрации при ГД [6, 8].

Системная реакция организма на поступивший ЭТ зависит не только от его количества, но и от состояния иммунных механизмов, участвующих в нейтрализации и клиренсе ЭТ. На фоне нарушений антиэндотоксинового иммунитета (АЭИ) чрезмерное поступление ЭТ в системный кровоток сопровождается, как правило, развитием широкого спектра воспалительных реакций, способныхотягочать течение основного заболевания. В то же время в целом ряде исследований было показано, что антитела к ЭТ могут предотвращать развитие эндотоксинового шока, а их содержание коррелирует с выраженностью эндотоксинемии [1].

В связи с этим целью данной работы являлось изучение динамики показателей антиэндотоксинового иммунитета и уровня С-реактивного белка у больных

ХБП, находящихся на программном ГД, за четырехлетний период почечной заместительной терапии.

Материалы и методы исследования

В условиях отделения интенсивной нефрологии и диализа Крымского республиканского учреждения «Клиническая больница имени Н.А. Семашко» в ноябре 2007 г. было обследовано 46 больных (24 женщины и 22 мужчины, возраст от 30 до 68 лет) с ХБП V стадии – терминальной хронической почечной недостаточностью, находящихся на лечении гемодиализом. При этом 18 человек (39,1% от указанного числа больных) находились на программном ГД более 10 лет. Все пациенты получали сеансы программного гемодиализа 3 раза в неделю, длительность сеанса составляла 4–5 часов. Диализ проводился на аппаратах «искусственная почка» АК-95 (Швеция) и «TINA» (США) с использованием бикарбонатного буфера. Использовался диализатор GFS-16, мембрана – гемофан фирмы «Gambro» (Швеция). За прошедшие четыре года из 46 больных, которые были включены в обследование в 2007 г., умерло 14 человек (30,4%). Из них в 2007–2008 гг. – 7 человек (15,2%), четверо из которых находились на программном гемодиализе более 10 лет. Причинами смерти троих больных явилась острая сердечно-сосудистая недостаточность (43%), двоих – сепсис (29%), один больной умер от рака верхней челюсти (14%), один – от полиорганной недостаточности (14%). Учитывая это обстоятельство, все больные ретроспективно были разделены на две группы. В первую клиническую группу вошло 7 больных ТХПН, умерших в течение 1-го года наблюдений. Вторую клиническую группу составили 32 больных ТХПН, находившихся на программном ГД в течение 2007–2011 гг. Кровь из вены брали непосредственно перед проведением процедуры ГД. Уровень сывороточных антиэндотоксиновых антител классов А, М и G (соответственно анти-ЭТ-IgA, анти-ЭТ-IgM и анти-ЭТ-IgG) и концентрацию С-реактивного белка (СРБ) в крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа [4, 5]. В контрольную группу было включено 38 практически здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с обследуемыми больными. Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием лицензионной программы «MedStat» (серийный № MS0011 ДНПП ТОВ «Альфа», г. Донецк) для параметрических и непараметрических критериев.

Результаты и обсуждение

Данные изучения основных классов антиэндотоксиновых антител и СРБ в клинических группах больных ХБП представлены в таблице.

Как следует из данных, приведенных в таблице, в 1-й клинической группе в 2007 г. уровень сывороточных

Таблица

Уровни сывороточных антиэндотоксиновых антител классов А, М, G и концентрация С-реактивного белка в крови у больных ХБП, находящихся на программном гемодиализе

Показатель	Статистический показатель	Норма	Больные ХБП, 1-я группа 2007 г.	Больные ХБП, 2-я группа 2007 г.	Больные ХБП, 2-я группа 2011 г.
Анти-ЭТ-IgG, усл. ед. опт. плот	Me (25–75%) n	0,144 (0,116–0,215) 30	0,223 (0,202–0,38) 7 p>0,05	0,371 (0,294–0,614) 32 p < 0,001 p ₁ = 0,031	0,420 (0,323–0,545) 32 p < 0,001 p ₂ = 0,985 ^T
Анти-ЭТ-IgA, усл. ед. опт. плот	Me (25–75%) n	0,213 (0,117–0,277) 38	0,164 (0,116–0,243) 7 P = 0,698	0,241 (0,193–0,434) 32 p = 0,092 p ₁ = 0,159	0,247 (0,137–0,389) 32 p = 0,370 p ₂ = 0,073 ^T
Анти-ЭТ-IgM, усл. ед. опт. плот	M ± m n	0,254±0,028 38	0,137 ± 0,049 7 P = 0,096	0,291 ± 0,054 32 p = 0,551 p ₁ = 0,045	0,239 ± 0,036 32 p = 0,742 p ₂ = 0,306
СРБ, мг/л	Me (25–75%) n	1,4 (0,6–2) 22	4,3 (3,6–15,9) 7 P < 0,001	3,5 (2,9–3,7) 30 p < 0,001 p ₁ = 0,019	16,2 (8,2–36,8) 30 p < 0,001 p ₂ < 0,001 ^T

Примечание. p – достоверность различий с нормой; p₁ – достоверность различий между соответствующим показателем 1-й и 2-й клинических групп; p₂ – между соответствующим показателем 2-й клинической группы в 2007 и 2011 гг.; n – количество обследуемых; ^T – T-критерий Вилкоксона для двух связанных выборок.

анти-ЭТ-IgA, анти-ЭТ-IgM и анти-ЭТ-IgG достоверно не отличались от референтного диапазона нормы и только показатель СРБ был достоверно выше, чем в группе здоровых доноров, в 3,1 раза (p < 0,001).

Во 2-й клинической группе больных на первом этапе обследования (2007 г.) содержание в крови анти-ЭТ-IgG и СРБ были выше соответственно в 2,6 раза (p < 0,001) и в 2,5 раза (p < 0,001) по сравнению с группой клинически здоровых лиц, а анти-ЭТ-IgA и анти-ЭТ-IgM не отличались от диапазона нормы. На втором этапе обследования (2011 г.) во 2-й клинической группе достоверной динамики основных классов антиэндотоксиновых антител по сравнению с первым этапом (2007 г.) не зарегистрировано. Сохранился высокий уровень анти-ЭТ-IgG – уже в 2,9 раза выше нормы (p < 0,001), в то время как содержание анти-ЭТ-IgA и анти-ЭТ-IgM достоверно не отличались от соответствующих показателей группы здоровых лиц. Обращает на себя внимание зарегистрированный нами факт повышения концентрации СРБ во 2-й группе больных ХБП, находящихся на программном гемодиализе, который вырос за 4 года наблюдения в 4,6 раза (p < 0,001).

Проведенный сравнительный межгрупповой анализ изучаемых показателей продемонстрировал, что в 1-й клинической группе на первом этапе обследования (2007 г.) зарегистрированы более низкие концентрации в крови сывороточных антиэндотоксиновых антител: анти-ЭТ-IgG – в 1,7 раза (p = 0,031) и анти-ЭТ-IgM – в 2,1 раза (p = 0,045) ниже показателей 2-й клинической группы. Кроме этого, у больных 1-й клинической группы концентрация СРБ в крови была достоверно выше, чем у больных 2-й группы, в 1,2 раза (p = 0,019).

Как оценить выявленные нами изменения антиэндотоксинового иммунитета у больных ХБП? Известно, что ЭТ относится к числу наиболее мощных провоспа-

лительных стимулов бактериального происхождения. Попадая в кровь, ЭТ связывается с белком, связывающим ЛПС (ЛСБ), а образующийся комплекс взаимодействует с рецепторным комплексом TLR4/CD14 на клетках моноцитарно-макрофагального ряда, что ведет к их активации и синтезу разнообразных медиаторов воспаления, включая провоспалительные цитокины TNF-α и IL-1. Показано, что даже небольшое количество ЭТ может приводить к воспалительному ответу, активируя иммунную систему и поддерживая состояние хронического воспаления [14, 21]. В настоящее время доказано, что развитие системного воспаления у больных ХБП играет важную роль в развитии кардиоваскулярной патологии и смертности данной категории больных. Проводимые ранее исследования концентрации ЭТ и СРБ у больных ХБП, находившихся на программном гемодиализе, установили существование тесной корреляционной взаимосвязи между уровнем ЭТ и СРБ (R = 0,595, P = 0,0103) и позволили авторам сделать вывод о том, что даже низкий уровень эндотоксемии может поддерживать системное воспаление у этих больных [22].

Повышение проницаемости кишечника для ЭТ у пациентов, прооперированных на органах брюшной полости и забрюшинного пространства, с наличием признаков системной воспалительной реакции приводит к росту уровня анти-ЭТ-IgG и анти-ЭТ-IgA [3]; у лиц, страдающих хроническим алкоголизмом и синдромом хронической усталости – к повышению анти-ЭТ-IgM и/или анти-ЭТ-IgA [16, 19].

Учитывая вышеизложенное, повышение концентрации анти-ЭТ-IgG у больных ХБП, находящихся на программном гемодиализе во 2-й клинической группе, следует считать реакцией гуморального звена антиэндотоксинового иммунитета на повышение кон-

центрации ЭТ, зарегистрированного рядом авторов у этой категории больных [22]. Учитывая достаточно высокий уровень СРБ и его достоверное увеличение в процессе динамического наблюдения за данным контингентом больных при неизменяемости показателей антиэндотоксиновых специфических антител, нельзя считать антиэндотоксиновый гуморальный ответ во 2-й клинической группе полностью адекватным. В условиях патологии ответ данного звена специфического иммунитета не позволяет в полной мере привести к полной нейтрализации ЭТ, а попытки «протезирования» этого дисбаланса с позиций доказательной медицины потерпели фиаско в лечении ЭТ сепсиса и шока. Поэтому в настоящее время ведутся активные научные исследования для создания искусственных синтетических анти-ЛПС пептидов для нейтрализации эндотоксинемии [11, 15].

Не отличающиеся от нормального уровни антиэндотоксиновых специфических антител в крови больных ХБП 1-й клинической группы в условиях эндотоксинемии можно считать проявлением глубокой депрессии антиэндотоксинового иммунитета и предиктором неблагоприятного исхода.

Выводы

1. У больных ХБП, находящихся на программном гемодиализе с 2007-го по 2011 г. (2-я группа), за указанный период времени выявлено стабильное повышение уровня антиэндотоксинового IgG, в 2,6–2,9 раза превышающего диапазон показателя группы здоровых лиц ($p < 0,001$).
2. У больных ХБП, находившихся на программном гемодиализе в 2007 г. и умерших в течение первого года наблюдения (1-я группа), уровень основных классов антиэндотоксиновых антител не отличался достоверно от показателей группы клинически здоровых доноров. Однако он был значительно ниже (анти-ЭТ-IgG в 1,7 раза и анти-ЭТ-IgM в 2,1 раза), чем у пациентов, продолжающих лечение, что можно расценивать как проявление депрессии антиэндотоксинового иммунитета и считать предиктором неблагоприятного исхода.
3. У больных ХБП, находящихся на программном ГД (2-я группа), за 4-летний период наблюдения выявлено возрастание в 4,6 раза изначально повышенного уровня СРБ ($p < 0,001$). У больных ХБП на программном ГД накануне летального исхода (1-я группа) уровень СРБ был выше в 1,2 раза, чем у больных, продолжающих лечение ($p < 0,019$), и в 3,1 раза выше, чем в группе здоровых доноров ($p < 0,001$).
4. Прогрессирование показателей системного воспаления (СРБ) на фоне стабильного уровня антиэндотоксинового IgG у больных ХБП, находящихся на программном ГД, выявленное нами через 4 года после начала исследования, возможно, свидетельствует о дисфункции антиэндотоксинового иммунитета и требует дальнейшего изучения и разработки методов его коррекции.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Белоглазов В.А. Выявление у больных бронхиальной астмой в системном кровотоке и мокроте комплексов, состоящих из эндотоксина грамотрицательной флоры кишечника и фибронектина // Иммунология та алергологія. 1998. № 1–2. С. 131–137.
2. Гордиенко А.И., Бакова А.А., Химич Н.В. Уровни естественных антител к липополисахаридам энтеробактерий у нововведенных доноров Республики Крым // Иммунология та алергологія. 2003. № 4. С. 31–36.
3. Потапов А.И. Синдром системного воспалительного ответа и антиэндотоксиновый иммунитет после операций на органах брюшной полости // Клінічна хірургія. 2008. № 1. С. 22–24.
4. Гордиенко А.И., Белоглазов В.О., Бакова А.А. Високочутливий імуноферментний метод кількісного визначення змісту С-реактивного білка в крові // Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я № 139. К., УКРМЕДПАТЕНТИНФОРМ. 2010. С. 4.
5. Гордиенко А.И., Белоглазов В.О. Патент 70193 А. Спосіб визначення антитіл до липополисахаридів грамотрицативних бактерій // Заявл. 29.12.2003. Опубл. 15.09.2004. Бюл. № 9.
6. Aline B.H., Stingben A.E.M., Goncalves S.M. et al. A gut feeling on endotoxemia: causes and consequences in chronic kidney disease // Nephron. Clin. Pract. 2011. Vol. 118. P. 165–172.
7. Aline B.H., Stingben A.E.M., Kato S. et al. Characteristic and causes of immune dysfunction related to uremia and dialysis // Peritoneal Dialysis International. 2008. Vol. 28, Supplement 3. P. 183–187.
8. Christopher W. McIntyre, Laura E.A. Harrison, M. Tarek Eldehni et al. Circulating Endotoxemia: A Novel Factor in Systemic Inflammation and Cardiovascular Disease in Chronic Kidney Disease // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2011. Vol. 6. P. 133–141.
9. George A. Kayser. The microinflammatory state in uremia: causes and potential consequences // J. Am. Soc. Nephrol. 2001. Vol. 12. P. 1549–1557.
10. Gollapudi P., J.-W. Yoon, S. Gollapudi, M.V. Pabl et al. Leukocyte Toll-Like Receptor expression in end-stage kidney disease // Am. J. Nephrol. 2010. Vol. 31. P. 247–254.
11. Gutschmann T., Razquin-Olazarar I., Kowalski I., m Kaconis Y. et al. New antiseptic peptides to protect against endotoxin-mediated shock // Antimicrobial agents and chemotherapy. 2010. Vol. 54. № 9. P. 3817–3824.
12. Hamann L., El-Samalouti V., Ulmer A.J. et al. Components of gut bacteria as immunomodulators // Int. J. Food Microbiol. 1998. Vol. 41. P. 141–154.
13. Heine H., Rietschel E.T., Ulmer A.J. The biology of endotoxin // Mol. Biotechnol. 2001. Vol. 19. № 3. P. 279–296.
14. Heumann D., Roger T. Initial responses to endotoxins and Gram-negative bacteria // Clin. Chim. Acta. 2002. Vol. 323. P. 59–72.
15. Kaconis Y., Kowalski I., Howe J. et al. Biophysical Mechanisms of Endotoxin Neutralization by Cationic Amphiphilic Peptides // Biophys. J. 2011. Vol. 100. № 11. P. 2652–2661.
16. Leclercq S., Cani P.D., Neyrinck A.M. et al. Role of intestinal permeability and inflammation in the biological and behavioral control of alcohol-dependent subjects // Brain Behav Immun. 2012. Vol. 26. № 6. P. 911–918.
17. Macintire D.K., Bellborn T.L. Bacterial translocation: clinical implications and prevention // Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract. 2002. Vol. 32. № 5. P. 1165–1178.
18. Maes M., Kubera M., Leunis J.C. et al. Increased IgA and IgM responses against gut commensals in chronic depression: further evidence for increased bacterial translocation or leaky gut // J. Affect. Disord. 2012. Vol. 141. № 1. P. 55–62.
19. Maes M., Twisk F.N., Kubera M. et al. Increased IgA responses to the LPS of commensal bacteria is associated with inflammation and activation of cell-mediated immunity in chronic fatigue syndrome // J. Affect. Disord. 2012. Vol. 136 (3). P. 909–917.
20. Miyake K. Endotoxin recognition molecules, Toll-like receptor 4-MD-2 // Semin. Immunol. 2004. Vol. 16. № 1. P. 11–16.
21. Pugin J., Heumann I.D., Tomasza A. et al. CD14 is a pattern recognition receptor // Immunity. 1994. Vol. 1. P. 509–516.
22. Terawaki H., Yokoyama K., Yamada Y. et al. Low-grade endotoxemia contributes to chronic inflammation in hemodialysis patients: examination with a novel lipopolysaccharide detection method // Ther. Apher. Dial. 2010. № 5. P. 477–482.

Дата получения статьи: 20.12.2012
Дата принятия к печати: 27.02.2013