

## ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕДУРЫ ГЕМОДИАЛИЗА НА УРОВЕНЬ С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА И ГУМОРАЛЬНЫЙ АНТИЭНДОТОКСИНОВЫЙ ИММУННЫЙ СТАТУС У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК

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

### Введение

Признаки активации иммунной системы и увеличение уровня медиаторов воспаления наблюдаются на ранних стадиях хронической болезни почек (ХБП) и увеличивается с её прогрессированием. Системное хроническое воспаление при многих заболеваниях является независимым фактором риска смертности от сердечно-сосудистых осложнений, кроме этого при ХБП с ним связывают развитие кальцификации сосудов и инсулинорезистентности, ускоренное развитие атеросклероза, снижение аппетита, увеличение мышечного катаболизма и анемию [4].

Бактериальный эндотоксин (ЭТ), представляющий собой липополисахарид (ЛПС) наружной мембраны грамм-негативной бактерии и высвобождающийся при разрушении бактериальной клеточной стенки внутри и вне кишечника человека, является одним из самых мощных эндогенных провоспалительных факторов. Высвобождение ЭТ, приводит к связи его с рецепторами CD14 на клетках моноцитарно-макрофагального ряда и синтезу разнообразных провоспалительных цитокинов. С ЭТ связывают формирование системного воспаления [11].

Длительное время считалось, что контаминация диализной жидкости эндотоксинами является одной из причин активации иммунной системы больных ХБП, находящихся на программном гемодиализе (ГД) [9]. Последние исследования показали, что пациенты, находящиеся на программном ГД имеют признаки мукозальной ишемии. Ультрафильтрация во время процедуры ГД приводит к снижению объема висцеральной крови, не смотря на сохраненное артериальное давление. Вследствие мезентериальной ишемии раз-

вивается деструкция слизистой оболочки кишечника с увеличением проницаемости для макромолекул, включая и ЭТ [7].

Усилению транслокации ЭТ по оси кишечник - портальная кровь - системное кровообращение при терминальной хронической почечной недостаточностью (ТХПН) способствуют: уремия, стимулирующая рост популяций бактерий в тонком кишечнике [10]; сердечная недостаточность и отеки, приводящие к нарушению кишечного и печеночного барьеров [6]; сниженный нутриционный статус, способствующий атрофии слизистой оболочки кишечника [8]; запоры [5].

В нейтрализации биологически активных форм ЭТ поступающих в системный кровоток, важную роль играют компоненты плазмы крови: естественные антиэндотоксиновые антитела, а также некоторые неантительные компоненты. К последним относятся липопроотеиды высокой плотности, трансферрин, альбумин и отдельные белки острой фазы, фибронектин [1]. Реализация провоспалительного эффекта ЭТ на организм зависит от функционирования этих ЭТ-связывающих систем индивидуума, в первую очередь антиэндотоксинового иммунитета. Роль дисбаланса гуморального антиэндотоксинового иммунитета в генезе системного воспаления у больных ТХПН находящихся на программном ГД не изучена.

**Цель работы:** изучить динамику С-реактивного белка и показателей гуморального антиэндотоксинового иммунитета в процессе одной процедуры гемодиализа у больных ТХПН находящихся на программном ГД.

### Материалы и методы исследования

В условиях отделения интенсивной нефрологии и диализа Крымского Республиканского Учреждения « Клиническая больница имени Н.А. Семашко» было обследовано 12 больных с ХБП V стадии, пролонгированной гемодиализом в возрасте от 34 до 60 лет. В группе обследованных было 6 женщин и 6 мужчин. 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).

Кровь из вены брали непосредственно перед и сразу после проведения процедуры ГД. Уровни сывороточных антиэндотоксиновых антител 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»[2,3]. 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.

#### Полученные результаты и их обсуждение

Данные изучения влияния процедуры гемодиализа на показатели гуморального антиэндотоксинового иммунитета и концентрацию в периферической крови СРБ представлены в таблице.

Как видно из данных, представленных в таблице, за время процедуры ГД у больных увеличился уровень СРБ от  $3,3 \pm 0,2$  до  $4,45 \pm 0,6$  мг/мл ( $p < 0,001^T$ ). Кроме этого, мы наблюдаем у этих больных повышение уровня анти-ЭТ-IgG в 1,4 раза от  $0,29 \pm 0,15$  до  $0,42 \pm 0,15$  мг/мл ( $p = 0,034^T$ ). Анти-ЭТ-IgA у больных статистически достоверно не изменяется ( $p = 0,569^T$ ). Концентрация анти-ЭТ-IgM за время процедуры ГД снизилась в 1,07 раза от  $0,15 \pm 0,11$  до  $0,14 \pm 0,12$  мг/мл ( $p = 0,042$ ). Уменьшение этого показателя свидетельствует, возможно, об увеличении потребления анти-ЭТ-IgM вследствие агрессии ЭТ в данный период. Эти изменения могут говорить об усилении хронической ЭТ агрессии, что приводит гуморальному антигетельному ответу в виде повышения уровня антител анти-ЭТ-IgG, одной из причин чего вероятно является мезентеральная и мукозальная ишемия, развивающаяся вследствие ультрафильтрации во время процедуры ГД.

Если сравнивать показатели СРБ и антиэндотоксинового иммунитета с донорами, то мы получили следующие результаты: до процедуры ГД у этих больных мы наблюдали более высокий уро-

вень СРБ ( $p = 0,001$ ) - в 2,4 раза выше, чем у доноров; а так же достоверно высокий уровень анти-ЭТ-IgG ( $p < 0,001$ ) - в 2 раза. Кроме этого, достоверно не отличающиеся от доноров уровни анти-ЭТ-IgA ( $p = 0,055$ ) и анти-ЭТ-IgM ( $p = 0,820$ ). Сразу после процедуры ГД мы зафиксировали следующие изменения по сравнению с условно здоровыми лицами: уровень СРБ становится больше чем у доноров в 3 раза ( $p < 0,001$ ); анти-ЭТ-IgG вырос и теперь отличается от доноров в 2,9 раза ( $p < 0,001$ ); анти-ЭТ-IgA стал достоверно ( $p = 0,036$ ) выше, чем у доноров - в 1,6 раз, но при сравнении с уровнем у этих пациентов до диализа достоверно не изменился ( $P = 0,569$ ); анти-ЭТ-IgM не отличается от нормы ( $p = 0,820$ ).

Таблица

#### Уровень С-реактивного белка и гуморальный эндотоксиновый иммунитет у больных ХБП до и после процедуры гемодиализа

Показатель	Норма	Больные ХБП	
		До ГД	После ГД
СРБ, мкг/мл n	$1,4 \pm 0,44$ 22	$3,3 \pm 0,2$ 12 $p = 0,001$	$4,45 \pm 0,6$ 12 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001^T$
Анти-ЭТ-IgG усл.ед.опт. плотн. n	$0,14 \pm 0,015$ 30	$0,29 \pm 0,15$ 12 $p < 0,001$	$0,42 \pm 0,15$ 12 $p < 0,001$ $p_1 = 0,034^T$
Анти-ЭТ-IgA усл.ед.опт.плот. n	$0,21 \pm 0,03$ 38	$0,27 \pm 0,11$ 12 $p = 0,055$	$0,33 \pm 0,12$ 12 $p = 0,036$ $p_1 = 0,569^T$
Анти-ЭТ-IgM усл.ед.опт.плот. n	$0,24 \pm 0,04$ 38	$0,15 \pm 0,11$ 12 $p = 0,820$	$0,14 \pm 0,12$ 12 $p = 0,973$ $p_1 = 0,042^T$

**Примечание:** n - количество обследуемых; p - достоверность различий с нормой;  $p_1$  - достоверность различия между показателями до и после ГД; <sup>T</sup> - T-критерий Вилкоксона для двух связанных выборок.

Мы трактуем полученные результаты, как свидетельство того, что за время процедуры ГД усиливается транслокация ЭТ (увеличение анти-ЭТ-IgG и падение анти-ЭТ-IgM) из кишечника в кровь вследствие негативного влияния ультрафильтрации на слизистые барьеры организма. Свидетельством того, что усиление транслока-

ции происходит за счет именно кишечного ЭТ является рост анти-ЭТ-IgA после ГД. Защитная реакция ЭТ иммунитета, направленная на консолидацию мукозального барьера (анти-ЭТ-IgA после ГД выше уровня нормы), не предотвращает усиление транслокации ЭТ в кровь, что приводит к снижению концентрации в крови анти-ЭТ-IgM (за счет потребления). Учитывая, хронический характер транслокации иммунная система отвечает повышением концентрации анти-ЭТ-IgG, который активно нейтрализует ЭТ в периферической крови. Несмотря на это, интегральный показатель системного воспаления (СРБ) увеличивается. Механизмы повышения СРБ при ГД многообразны. Это может происходить из-за влияние ультрафильтрации на вымывание медиаторов воспаления из локального компартмента в системный компартмент, реакцией клеток крови на процедур ГД, активацией резервной системы гуморального ЭТ иммунитета – липополисахарид-связывающий белок, который образует с ЭТ комплексы воздействующие на рецепторы CD14/TLR4 на клетках мононуклеарного ряда, результирующим эффектом данного взаимодействия является продукция провоспалительных медиаторов. Все эти аспекты потенцирования хронического системного воспаления при ГД нуждаются в дополнительном углубленном изучении.

#### Выводы

1. Процедура ГД у больных ХБП приводит к достоверному росту изначально повышенной концентрации в крови СРБ от  $3,3 \pm 0,20$  до  $4,45 \pm 0,6$  мкг/мл ( $p < 0,001$ ).
2. За время одной процедуры ГД усиливается дисбаланс антиэндотоксинового иммунитета, что проявляется в снижении анти-ЭТ-IgM – 1,07 раза (за счет потребления) и повышении в 1,4 раза анти-ЭТ-IgG.
3. Достоверной динамики у больных ТХПН анти-ЭТ-IgA после ГД не зарегистрировано, хотя уровень анти-ЭТ-IgA становится выше уровня нормы после процедуры ГД в 1,6 раза ( $p = 0,036$ ).
4. Дисфункция антиэндотоксинового иммунитета может вносить существенный вклад в развитие системного хронического воспаления и требует разработки новых методов уменьшения ЭТ агрессии у больных, находящихся на программном гемодиализе.

#### Литература

1. Белоглазов В.А. Выявление у больных бронхиальной астмой в системном кровотоке и моче комплексов, состоящих из эндотоксина грамотри-

тивной флоры кишечника и фибронектина / В.А. Белоглазов // *Имунологія та алергологія*. 1998. - № 1-2. - С. 131-137.

2. Гордієнко А.І. Високочутливий імуноферментний метод кількісного визначення змісту С-реактивного білка в крові: інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я №139 / А.І. Гордієнко, В.О. Білоглазов, А.А. Бакова. – Київ: УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ, 2010. - 4 с.

3. Гордієнко А.І. Патент України 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.

4. Characteristic and causes of immune dysfunction related to uremia and dialysis / Aline Borsato Hauser, Andréa E. M. Stinghen, Sawako Kato [et al.] // *Peritoneal Dialysis International* - 2008 - Vol. 28, Suppl. 3 – P. 183-187.

5. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection / J.M. Brenchley, D.A. Price, T.W. Schacker [et al.] // *Nat. Med.* – 2006. – Vol. 12. – P. 1365–1371.

6. Role of bacterial endotoxin in chronic heart failure: the gut of the matter / B.M. Charalambous, R.C. Stephens, I.M. Feavers, H.E. Montgomery // *Shock*. - 2007. - Vol. 28. - P. 15–23.

7. Intestinal and hemodynamic impairment following mesenteric ischemia/reperfusion / A. Khanna, J.E. Rossman, H.L. Fung, M.G. Caty // *J. Surg. Res.* – 2001. – Vol. 99. – P. 114–119.

8. Effects of protein malnutrition and endotoxin on the intestinal mucosal barrier to the translocation of indigenous flora in mice / M. Li, R.D. Specian, R.D. Berg, E.A. Deitch // *J. Parenter. Enteral. Nutr.* – 1989. – Vol. 13 – P. 572–578.

9. Raij L. Endotoxemia in febrile reactions during hemodialysis / L. Raij, F.L. Shapiro, A.F. Michael // *Kidney Int.* – 1973. – Vol. 4. – P. 57–60.

10. Bacterial populations of the small intestine in uremia / M.L. Simenhoff, J.J. Saukkonen, J.F. Burke [et al.] // *Nephron*. – 1978. – Vol. 22. – P. 63–68.

11. Toll-like receptor-2 mediates lipopolysaccharide-induced cellular signaling / R.B. Yang, M.R. Mark, A. Gray [et al.] // *Nature*. – 1988. - Vol. 395. – P. 284–288.

#### Резюме

**Білоглазов В.О., Климчук А.В., Холодов Д.А., Усаченко І.С.** Вплив процедури гемодіалізу на рівень С-реактивного білку і гуморальний антиендотоксинний імунний статус у хворих на хронічну хворобу нирок.

Встановлені особливості впливу процедури гемодіалізу (ГД) на рівень С-реактивного протеїну (СРП) та антиендотоксинний імунний статус у хворих з термінальною нирковою недостатністю. Було обстежено 12 хворих до та після процедури ГД. Рівень СРП та антитіл до ендотоксину (ЕТ) *E.Coli* визначали методом імуноферментного аналізу. Доведено, що під впливом процедури ГД підвищується рівень СРП та збільшується дисбаланс антиендотоксинового

імунітету, що може призвести до індукції патогенетичного впливу ЕТ на організм хворого з термінальною нирковою недостатністю.

**Ключові слова:** хронічна хвороба нирок, гемодіаліз, ускладнення, запалення, ендотоксин, антиендотоксиновий імунітет.

#### Резюме

**Белоглазов В.А., Климчук А.В., Холодов Д.А., Усаченко І.Е.** *Влияние процедуры гемодиализа на уровень С-реактивного белка и гуморальный антиэндотоксиновый иммунный статус у больных хронической болезнью почек.*

Установлены особенности влияния процедуры гемодиализа (ГД) на уровень С-реактивного белка (СРБ) и антиэндотоксиновый иммунный статус у больных терминальной почечной недостаточностью. Было обследовано 12 больных до и после процедуры ГД. Уровень СРБ и антител к эндотоксину (ЭТ) *E. Coli* определяли методом иммуноферментного анализа. Доказано, что под воздействием процедуры ГД повышается уровень СРБ и увеличивается дисбаланс антиэндотоксинового иммунитета, который может привести к индукции патогенетического влияния ЭТ на организм больного с терминальной почечной недостаточностью.

**Ключевые слова:** хроническая болезнь почек, гемодиализ, осложнения, воспаление, эндотоксин, антиэндотоксиновый иммунитет.

#### Summary

**Biloglazov V.A., Klimchuk A.V., Holodov D.A., Usachenko I.E.** *Influence of a hemodialysis on the level of C-reactive protein and humoral antiendotoxic immune status for patients by chronic illness of buds.*

Features of influence of a hemodialysis on level of C-reactive protein and the anti-endotoxic immune status at patients with the terminal stage of chronic kidney disease are established. 12 patients before and after a hemodialysis were investigated. Levels of C-reactive protein and antibodies to *E. Coli* endotoxin are determined by a method of the immunoenzymatic analysis. It is proved that under the influence of a hemodialysis level of C-reactive protein raises and the imbalance of antiendotoxic immunity which can lead to an induction of pathogenetic influence of endotoxin on an organism of the patient with the terminal stage of chronic kidney disease increases.

**Key words:** chronic kidney disease, hemodialysis, complications, inflammation, endotoxin, antiendotoxic immunity.

**Рецензент:** д.мед.н., проф. Ю.Г. Бурмак

УДК 616.12-008.46-092:577.156.5

## ХИМАЗА И ВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВАЦИЯ ПРИ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

**В.И. Волков, С.А. Серик, Э.Н. Сердобинская-Канивец,  
Т.А. Ченчик, Л.М. Самохина**

ГУ «Институт терапии им. Л.Т. Малой АМН Украины» (Харьков)

### Введение

Результаты многочисленных экспериментальных и клинических исследований привели к признанию важной роли в патогенезе хронической сердечной недостаточности (СН) воспалительных медиаторов, которые способствуют ремоделированию миокарда и нарушениям в периферическом сосудистом русле [8]. При этом предполагается, что в патогенез диабетической, ишемической, гипертензивной СН могут быть вовлечены разные воспалительные процессы. Поэтому изучение специфических воспалительных механизмов при СН разной этиологии представляет собой важную задачу, решение которой необходимо для разработки адекватных противовоспалительных стратегий лечения СН [7].

В последние годы переосмыслена роль тучных клеток в иммуновоспалительных процессах и в настоящее время эти клетки рассматриваются не только как эффекторы аллергического ответа, но и считаются важными регуляторами тканевого гомеостаза в связи иммуномодулирующими свойствами [9]. Предполагается, что тучные клетки вовлечены в патогенез СН: в ответ на перегрузку миокарда объемом или давлением, вследствие поражения сосудов и инфаркта миокарда тучные клетки высвобождают многочисленные продукты, в том числе химазу, триптазу и ФНО- $\alpha$ , которые приводят к ремоделированию левого желудочка [4]. В то же время, тучные клетки участвуют в развитии инсулинорезистентности и сахарного диабета, при этом их патологическая активность также определяется высвобождением цитокинов, хемокинов и протеаз, включая специфические для этих клеток химазу и триптазу [11]. Можно предположить, что ассоциированная с диабетом активация тучных клеток с секрецией провоспалительных цитокинов и хемокинов вносит определенный вклад прогрессирования СН при сахарном диабете 2 типа.