

тальному алергічному енцефаломієліті та його корекції. Автореф.дис.канд.біол. наук.- К.2003.-20 с.

16. Гнедкова И.А., Лисяный Н.И., Гнедкова М.А. Изучение иммунорегуляторных свойств эмбриональных клеток головного мозга мышей С57В1/6//Імунологіятаалергологія.– 2008, №1.–С.68-72.
17. Черенько Т.М. Сенситизация к нейроспецифическим белкам у больных с закрытой черепно-мозговой травмой: Автореф дис. канд.мед. наук.- К., 1989.-26 с

## РЕЗЮМЕ

### ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ НА ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОИМУННОГО ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТА У КРЫС

Лисяны й Н.И. Бельская Л.Н. Гнедкова И.А. Станецкая Д.М.

В статье приведены данные о культивировании стромально- васкулярной фракции клеток жировой ткани и получения мезенхимальных стволовых клеток ( МСК ), которые использовали для лечения крыс с ЭАЭ . Установлено , что двухразовое введение МСК

на 5 и 8 сутки после индукции ЕАЕ уменьшает тяжесть заболевания и подавляет гуморальные и клеточные нейроаутоиммунные реакции в отдаленном периоде заболевания. МСК полученные из жировой ткани могут быть использованы в качестве перспективного средства в лечении аутоиммунной патологии нервной системы, а именно рассеянного склероза

## SUMMARY

### EFFECT MESENCHYMAL STEM CELLS FAT TISSUE ON THE COURSE OF EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE ENCEPHALOMYELITISs IN RATS

Lisyany N.I., Bielska L.N., Hnidkova I.A., Stanetska D.N.

This paper presents data on the cultivation of stromal -vascular fraction of adipose tissue cells and obtaining mesenchymal stem cells ( MSCs ), which are used to treat rats with EAE . Established that two single administration of MSCs for 5 and 8 days after induction of EAE reduces the severity of the disease and suppresses humoral and cellular responses neuroautoimmunity response in the late period of the disease. MSCs derived from adipose tissue can be used as a promising tool in the treatment of autoimmune pathology of the nervous system such as multiple sclerosis.

## АНТИЭНДОТОКСИНОВЫЙ ИММУННЫЙ СТАТУС И УРОВЕНЬ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК НА ГЕМОДИАЛИЗЕ

БЕЛОГЛАЗОВ В. А., КЛИМЧУК А. В.

ГУ « Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», кафедра внутренней медицины № 2, г. Симферополь.

Темпы распространенности хронической болезни почек (ХБП) растут во всем мире как следствие увеличения заболеваемости сахарным диабетом, гипертонической болезнью и старения населения [7,12]. По мере прогрессирования почечного повреждения с увеличением стадии ХБП развиваются метаболические изменения в организме больного, приводящие к росту оксидативного стресса и иммунным нарушениям [9]. У пациентов с ХБП развивается сложное взаимодействие между врожденным и приобретенным иммунитетом, в котором иммунная активация (гиперцитокинемия и острофазовый ответ) и подавление иммунитета (нарушенный ответ на инфекцию и дисбаланс адаптивного иммунитета) сосуществуют [8]. Известно, что у пациентов с терминальной хронической почечной недостаточностью (ТХПН) на гемодиализе (ГД) присутствуют

следующие мультифакторные биологические и клеточные дисфункции: активация мононуклеарных клеток, активация комплемента, синтез и высвобождение цитокинов, активных форм кислорода, высокий уровень хронического воспаления [10]. Общеизвестно, что хроническое воспаление играет решающую роль в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, которые являются основной причиной смертности пациентов с ХБП на ГД [14]. Развитие осложнений у пациентов с ХБП на ГД тесно связано с иммунной дисфункцией.

В качестве триггерных факторов индукции системного воспаления может выступать эндотоксин (ЭТ) грамотрицательных бактерий, который попадая в кровяное русло при транслокации из кишечника способен запускать провоспалительные реакции. Однако, это действие может блокироваться иммунной системой орга-

низма, если ответ её адекватен [15].

Целью нашего исследования явилось изучение дисбаланса гуморального, клеточного антиэндотоксинового иммунитета (АЭИ), мукзального иммунитета и уровня системного воспаления у больных с ХБП находящихся на программном гемодиализе (ГД), а также влияние на изучаемые показатели одного сеанса ГД.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В условиях отделения интенсивной нефрологии и диализа Крымского Республиканского Учреждения «КТМО Университетская клиника» г. Симферополя было обследовано 94 пациента с ХБП V стадии на ГД, из них 44 женщины и 50 мужчин, средний возраст обследованных равнялся  $44,9 \pm 1,3$  г.

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). Исследование проводилось в 2 этапа. На 1 этапе исследования были обследовано 94 пациента с ХБП V стадии на ГД. Крови из вены у этих больных брали непосредственно перед сеансом гемодиализа. На 2 этапе исследования были выделена группа пациентов из 12 человек, 6 мужчин и 6 женщин, средний возраст которых равнялся  $45,7 \pm 2,6$  лет, у которых кровь для исследования бралась как непосредственно до, так и сразу после сеанса ГД.

Контрольную группу составили 38 практически здоровых людей, соответствующих больным ХБП по возрастному диапазону и половому распределению.

Уровни 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 (ТИФА) с использованием протоколов, разработанных в отделе клинической иммунологии ЦНИЛ ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского» [2,4]. Уровни анти-ЭТ-IgM, анти-ЭТ-IgG и анти-ЭТ-IgA выражали в условных единицах оптической плотности (ед.опт.пл.) 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. В качестве антигена использовали коммерческий препарат липополисахарида (ЛПС) *Escherichia*

*coli* K235 (Sigma Chem. Co., USA). Оптическую плотность конечного продукта ферментативной реакции определяли с помощью иммуноферментного анализатора Stat Fax 2100 (Awareness Tech. Inc., USA) при длине волны 492 нм. Результаты измерений выражали в условных единицах оптической плотности, соответствующих значениям экстинкции конечного продукта ферментативной реакции для разведения тестируемой смешанной ротовой жидкости 1:10 [4]. Концентрацию СРБ выражали в мг/л.

Общий секреторный иммуноглобулин А (slgA) и антиэндотоксиновый секреторный иммуноглобулин А (анти-ЭТ-slgA) в смешанная ротовой жидкости также определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА) по протоколам, разработанным в лаборатории клинической иммунологии ЦНИЛ Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского [2]. Специфическим реагентом для выявления анти-ЭТ-slgA, связавшихся с поверхностью твердой фазы, предварительно сенсibilизированной ЛПС, служил иммунопероксидазный конъюгат овечьих антител, специфичных к slgA человека (анти-slgA\*HRP).

Экспрессию эндотоксин-связывающих рецепторов разных типов на моноцитах и гранулоцитах периферической крови изучали методом проточной лазерной цитофлуорометрии с помощью проточного лазерного цитофлуориметра PASIII (Partec GmbH, Munster, Germany) и технологии двухцветного иммунофлуоресцентного анализа, которая также была разработана нами ранее [3]. Для определения уровня экспрессии эндотоксин-связывающего рецептора CD14 использовали моноклональные антитела к CD14, конъюгированные с фикоэритрином PE (анти-CD14-PE IOTest®; Immunotech Coulter Co., France). Для выявления пула эндотоксин-связывающих рецепторов (ЭТ-Р), находящихся в функционально активном состоянии и способных непосредственно взаимодействовать с ЭТ, в качестве флуоресцентного зонда применяли конъюгат липополисахарида (эндотоксина) *Escherichia coli* K235 с флуоресцеинизитионатом (ЭТ-ФИТЦ) [5]. Для сбора и анализа результатов использовали программное обеспечение Partec FloMax V. 2.4d (Partec GmbH, Munster, Germany). Уровень экспрессии CD14 и ЭТ-Р на моноцитах и гранулоцитах выражали в условных единицах флуоресценции (усл.ед.флуор.).

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

# РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные нам данные гуморального и клеточного АЭИ, а также уровень общего sIgA, анти-ЭТ-sIgA и СРБ у больных ХБП V стадии на ГД представлены в таблице 1.

Таблица 1

**Гуморальный, клеточный антиэндотоксиновый иммунитет, мукозальный иммунитет и уровень С-реактивного белка у больных ХБП, находящихся на программном гемодиализе**

Показатель	Статистический показатель	Норма	Больные ХБП ГД
Анти-ЭТ-IgG ед.опт.пл.	M ±m n	0,166±0,012 30	0,929±0,037 94 p<0,001
Анти-ЭТ-IgA ед.опт.пл.	Me (25% - 75%) n	0,213(0,117 - 0,277) 38	0,173 (0,119-0,305) 94 p=0,613
Анти-ЭТ-IgM ед.опт.пл.	Me (25% - 75%) n	0,244 (0,12-0,34) 38	0,175 (0,109-0,278) 94 p=0,391
CD14 на моноцитах усл.ед.флюор.	Me (25% - 75%) n	23,29 (15,6-31,6) 19	28,21 (25,92-32,43) 87 p=0,011
CD14 на гранулоцитах усл.ед.флюор.	Me (25% - 75%) n	0,75(0,66-0,93) 20	0,78 (0,73-0,88) 90 p=0,456
ЭТ-Р на моноцитах усл.ед.флюор.	Me (25% - 75%) n	2,01 (1,83-2,34) 20	2,44 (2,28-2,58) 87 p=0,002
ЭТ-Р на гранулоцитах усл.ед.флюор.	Me (25% - 75%) n	1,17 (1-1,27) 20	1,16 (1,1-1,29) 90 p=0,537
sIgA мг/л	Me (25% - 75%) n	145,8 (89,4- 183,1) 33	162,9 (83,4 - 264,8) 68 p=0,341
Анти-ЭТ-sIgA ед.опт.пл.	Me (25% - 75%) n	0,032 (0,022 - 0,063) 33	0,277 (0,174 - 0,564) 63 p<0,001
СРБ мг/л	Me (25% - 75%) n	1,4 (0,6-2) 22	11,2 (5,6-30,8) 94 p<0,001

Примечание: Me – медиана, M – средняя, p – достоверность различий с нормой, n – количество обследуемых.

У больных получающих программный ГД имеет место повышение анти-ЭТ-IgG в 5,6 раз по сравнению с группой здоровых лиц (p<0,001) на фоне анти-ЭТ-IgA и анти-ЭТ-IgM не выходящие за пределы диапазона нормы (p=0,613 и p=0,391 соответственно). Экспрессия CD14 и ЭТ-Р на моноцитах у больных ХБП находящихся на программном ГД достоверно выше чем в группе здоровых лиц в 1,2 раза каждая (p=0,011 и p=0,002 соответственно). Экспрессия CD14 и ЭТ-Р на гранулоцитах у больных ХБП не отличается от нормальных показателей. Нами выявлено существование положительной корреляционной связи между повышением CD14 и ЭТ-Р на моноцитах: Tau>0

(Tau=0,406), на уровне значимости p<0,01; Ro>0 (Ro=0,592), на уровне значимости p<0,01. Кроме этого из таблицы 1 видно, что общий sIgA у больных ХБП достоверно не отличался от показателей нормы, в то время как анти-ЭТ-sIgA был увеличен в 8,7 раза по сравнению с группой здоровых доноров (p<0,001). Все эти изменения со стороны АЭИ сочетались с повышением уровня СРБ в 8 раз по сравнению с диапазоном нормы (p<0,001).

На 2 этапе исследования, нами было изучено влияние одного сеанса ГД на АЭИ больных с ХБП на ГД. Полученные нами результаты представлены в таблице 2.

Таблиця 2

**Гуморальний і клітинний антиендоксинальний імунітет і рівень С-реактивного білка і у хворих ХБП до і після одного сеансу гемодіалізу**

Показатель	Норма	Хворі ХБП	
		До ГД	Після ГД
Анти-ЭТ-IgG ед.опт.пл. Me (25% - 75%) n	0,144(0,116-0,215) 30	0,29 (0,226-0,407) 12 p<0,001	0,417(0,296-0,479) 12 p<0,001 p <sub>1</sub> =0,034 <sup>†</sup>
Анти-ЭТ-IgA ед.опт.пл. Me (25% - 75%) n	0,213(0,117-0,277) 38	0,274 (0,24-0,4) 12 p=0,055	0,327(0,209-0,453) 12 p=0,036 p <sub>1</sub> =0,569 <sup>†</sup>
Анти-ЭТ-IgM ед.опт.пл. Me (25% - 75%) n	0,244(0,12-0,34) 38	0,148(0,102-0,422) 12 p=0,820	0,144(0,123-0,491) 12 p=0,973 p <sub>1</sub> =0,042 <sup>†</sup>
CD14 на моноцитах усл.ед.флюор. M ±m n	24,56± 1,94 19	29,99±0,38 12 p=0,013	36,07±0,44 12 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 <sup>†</sup>
CD14 на гранулоцитах усл.ед.флюор. M ±m n	0,792±0,038 20	0,816±0,022 12 p=0,593	0,811±0,031 12 p=0,736 p <sub>1</sub> =0,914
ЭТ-Р на моноцитах усл.ед.флюор. M ±m n	2,052±0,105 20	2,502±0,050 12 p<0,01	2,642±0,07 12 p<0,01 p <sub>1</sub> =0,63
ЭТ-Р на гранулоцитах усл.ед.флюор. M ±m n	1,14±0,048 20	1,207±0,04 12 p=0,335	1,175±0,053 12 p=0,642 p <sub>1</sub> =0,690
СРБ, мг/л Me (25% - 75%) n	1,4(0,6-2) 22	3,3(2,7-3,6) 12 p=0,001	4,45(3,85-5,1) 12 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001 <sup>†</sup>

Примечание: Me – медіана, M – середня, p – достовірність різниць з нормою; p<sub>1</sub> – достовірність різниці між показателями до і після ГД, <sup>†</sup> – Т-критерій Вількоксона для двох зв'язаних вибірок, n – кількість обстежуваних.

Як видно з даних, представлених в таблиці 2, за час одного сеансу ГД ми спостерігали у цих хворих підвищення рівня анти-ЭТ-IgG в 1,4 рази (p=0,034<sup>†</sup>). При порівнянні цього показателя з донорами ми отримали наступні результати: до сеансу ГД у цих хворих достовірно високий рівень анти-ЭТ-IgG (p<0,001) - в 2 рази вище рівня норми, після одного сеансу ГД зареєстровано його збільшення до концентрації в 2,9 раз перевищує рівень норми (p<0,001).

Анти-ЭТ-IgA у хворих за час однієї процедури ГД статистично достовірно не змінявся (p=0,569<sup>†</sup>). Однак, якщо до проведення ГД концентрація анти-ЭТ-IgA не відрізнялася достовірно від групи здорових осіб, то після ГД

рівень даних антител у хворих ХБП вийшов за верхню межу діапазону норми і став вище нормальних показателів в 1,5 рази (p=0,036).

Концентрація анти-ЭТ-IgM за час однієї процедури ГД у хворих достовірно знизилася з 0,274 (0,24-0,4) ед.опт.пл. до 0,144(0,123-0,491) ед.опт.пл. (p=0,042), але залишилася в межах референсного діапазону норми.

Також за один сеанс ГД збільшується експресія CD14 на моноцитах в 1,2 рази (p<0,001<sup>†</sup>), достовірно перевищуючи рівень показателів здорових донорів на всіх етапах дослідження.

Повищена експресія ЭТ-Р на моноцитах, порівняно з нормою, в процесі ГД не зазнала достовірних змін (p=0,63).



Также не изменялась при проведении сеанса ГД экспрессия CD14 и ЭТ-Р на гранулоцитах.

Высокий уровень СРБ за время одного сеанса ГД у больных увеличился в 1,4 раза ( $p < 0,001^T$ ).

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из приведенных выше данных, нами обнаружен повышенный уровень сывороточного анти-ЭТ-IgG у больных ХБП на ГД, что свидетельствует о выраженной хронической нагрузке ЭТ на организм данной категории пациентов. Кроме этого, нами выявлено повышение анти-ЭТ-sIgA на фоне нормального уровня общего sIgA, что, вероятно, связано с повышением именно ЭТ стимула на иммунные системы, ассоциированные со слизистыми оболочками желудочно-кишечного тракта. Такое повышение ЭТ стимула может быть связано с дисбиотическими процессами, вызванными ростом грамотрицательной флоры, закономерно развивающимися на фоне уремии, что было зарегистрировано в ряде работ ранее [6,13]. Кроме этого известно, что ультрафильтрация во время ГД индуцирует системный циркуляторный стресс и рецидивирующую мукозальную и мезентериальную ишемию, что ведет к увеличению транслокации ЭТ из кишечника [11]. Является ли повышение секреторного анти-ЭТ-sIgA адекватной высокому ЭТ стимулу у больных на ГД? Учитывая высокий уровень анти-ЭТ-IgG в крови, по нашему мнению, повышение анти-ЭТ-sIgA не способно противостоять чрезмерной транслокации ЭТ в портальную кровь через слизистые оболочки кишечника, измененные под воздействием уремии и ГД. Отсутствие однонаправленных изменений общего sIgA и анти-ЭТ-sIgA, по нашему мнению, являться отражением дисфункции мукозальной системы, что в свою очередь может объяснять повышенную восприимчивость к инфекционным заболеваниям у этой категории больных.

Наблюдаемое нами повышение экспрессии CD14 и ЭТ-Р на моноцитах у больных ХБП на ГД, а также их положительная корреляционная связь также свидетельствует о высоком ЭТ стимуле на данные клетки вследствие хронической эндотоксинеми, функциональной недостаточности антительных мукозальных и гуморальных антиэндотоксиновых барьеров.

Необходимо отметить, что перечисленные выше изменения сочетаются со значительным повышением уровня СРБ, который дает основание полагать, что ЭТ компоненты играют важную роль в формировании системного воспаления у больных с ХБП на ГД.

Увеличение уровня анти-ЭТ-IgG и анти-ЭТ-IgA в периферической крови после сеанса ГД может быть связано как с элементами гемоконцентрации, так и с ответом иммунной системы на повы-

шенную транслокацию ЭТ через слизистые оболочки. Обращает на себя внимание снижение за время сеанса ГД анти-ЭТ-IgM, хотя он и остается в диапазоне нормы, что, по-видимому, является отражением его потребления, в то время как в условиях хронической транслокации ЭТ, преимущественная направленность антителогенеза идет по вектору направленному на синтез сывороточного анти-ЭТ-IgG и секреторного анти-ЭТ-IgA. Выявленное нами повышение анти-ЭТ-IgA после сеанса ГД, возможно, говорит о том, что источником ЭТ при ГД может быть не только диализат, но собственно слизистые оболочки организма пациента, в том числе кишечника, обильно колонизированного грамотрицательной микрофлорой. В тоже время, нами выявлено, что один сеанс ГД у больных ХБП приводит к ЭТ зависимой активации моноцитов, что выражалось в увеличении экспрессии CD14, и повышению уровня системного воспаления СРБ, изначально превышающего показатели нормы.

Предыдущие исследования динамического четырехлетнего мониторинга концентрации антиэндотоксиновых антител у больных ТХПН на программном ГД показали, что высокий риск летального исхода у этой категории пациентов ассоциируется с нормальным уровнем анти-ЭТ-IgG на фоне более высокого уровня СРБ, превышающего показатели и здоровых доноров и группы больных ТХПН со 100% выживаемостью в течение этого периода наблюдения. Необходимо отметить, что у больных ТХПН без летального исхода на протяжении 4 лет наблюдения был зарегистрирован высокий уровень анти-ЭТ-IgG [1]. Следовательно, благоприятным прогностическим признаком для четырехлетней выживаемости данного контингента больных является высокий уровень анти-ЭТ-IgG на фоне относительно более низкого (по отношению к группе с летальным исходом) уровня СРБ, что свидетельствует о важной роли данных антител в нейтрализации ЭТ и в противодействии развитию эндотоксининдуцированного системного воспаления. Можно предположить, что повышение анти-ЭТ-IgG на фоне системного хронического воспаления может являться адаптивным механизмом, необходимым для выживания в условиях хронической эндотоксинеми и недостаточности местного иммунитета, которая, вероятно, является результатом ТХПН.

Наши наблюдения свидетельствуют, о необходимости дальнейших исследований, направленных на изучение роли ЭТ грамотрицательных бактерий и дисбаланса антиэндотоксинового иммунитета в поддержании хронического системного воспаления у больных ХБП на ГД. А также необходимы поиски доказательных методов, способных уменьшить отрицательное воздействие ЭТ на организм больного ХБП на ГД.

## ВЫВОДЫ

1. У больных ХБП, находящихся на ГД зарегистрировано повышение уровня анти-ЭТ-IgG до  $0,929 \pm 0,037$  ед.опт.пл. ( $p < 0,001$ ), что в 5,6 раз выше, чем в группе здоровых доноров, на фоне анти-ЭТ-IgA и анти-ЭТ-IgM не выходящих за пределы диапазона нормы. Кроме этого, выявлено увеличение в 8,7 раз уровня анти-ЭТ-sIgA в смешанной ротовой жидкости до  $0,277(0,174-0,564)$  ед.опт.пл. ( $p < 0,001$ ). Общий sIgA в смешанная ротовой жидкости у больных ХБП на ГД достоверно не отличается от показателей нормы.
2. Экспрессия CD14 на моноцитах у больных ХБП находящихся на программном ГД повышена до  $28,21(25,92-32,43)$  усл.ед. флюор. ( $p = 0,011$ ), что в 1,2 раза выше, чем в норме. Экспрессия ЭТ-Р на моноцитах у этой категории больных также повышена до  $2,44(2,28-2,58)$  усл.ед. флюор., что достоверно ( $p = 0,002$ ) выше в 1,2 раза, чем у здоровых лиц. Экспрессия CD14, ЭТ-Р на гранулоцитах у больных ХБП на ГД не выходит за рамки референсного диапазона нормы для этих показателей. Выявлена положительная корреляционная связь между повышением CD14 на моноцитах и повышением ЭТ-Р на моноцитах:  $\text{Tau} > 0$  ( $\text{Tau} = 0,406$ ), на уровне значимости  $p < 0,01$ ;  $\text{Ro} > 0$  ( $\text{Ro} = 0,592$ ), на уровне значимости  $p < 0,01$ .
3. У больных ХБП, находящихся на ГД зарегистрировано повышение концентрации СРБ до  $11,2(5,6-30,8)$  мг/л ( $p < 0,001$ ), что в 8 раз превышает данный показатель в группе здоровых лиц и свидетельствует о высоком уровне системного воспаления при ТХПН.
4. За время одной процедуры ГД у больных ТХПН выявлено повышение уровня анти-ЭТ-IgG в 1,4 раза с  $0,29(0,226-0,407)$  до  $0,417(0,296-0,479)$  ед.опт.пл. ( $p = 0,034^T$ ), увеличение 1,2 раза экспрессии CD14 на моноцитах с  $29,99 \pm 0,38$  до  $36,07 \pm 0,44$  усл.ед. флюор. ( $p_1 < 0,001^T$ ) и рост системного воспаления по показателю СРБ в 1,3 раза с  $3,3(2,7-3,6)$  до  $4,45(3,85-5,1)$  мг/л ( $p < 0,001^T$ ), что отражает усиление эндотоксиновой агрессии и требует разработки методов её патогенетической коррекции.

## ЛИТЕРАТУРА

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

- В.А., Климчук А.В., Гордиенко А.И. с соавторами. // Нефрология и диализ. – 2013 - №2 – с.140-143.
2. 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., УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ, 2010.- 4 с.
3. Гордієнко А.І. Метод визначення ендотоксинзв'язуючих рецепторів на моноцитах і гранулоцитах периферичної крові. / Гордієнко А.І., Білоглазов В.О., Хіміч Н.В. // Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я №122.- К., УКРМЕДПАТЕНТ ІНФОРМ, 2010.- 4 с.
4. 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.
5. Гордиенко А.И. Улучшенный метод получения флуоресцентного зонда для определения липополисахарид-связывающих рецепторов методом проточной лазерной цитофлуориметрии. / Гордиенко А.И. // Таврический медико-биологический вестник.- 2007.- 10, №4.- С. 156-160.
6. Anders H.J. The intestinal microbiota, a leaky gut, and abnormal immunity in kidney disease. / Anders H.J., Andersen K., Stecher B. // Kidney Int – 2013 - Jun;83(6) – p.1010-10166.
7. Grassmann A. ESRD patients in 2004: global overview of patient numbers, treatment modalities and associated trends. / Grassmann A., Gioberge S., Moeller S., et al. // Nephrol Dial Transplant – 2005 - №20 – p.2587–2593.
8. Hauser A.B. Characteristics and causes of immune dysfunction related to uremia and dialysis. / Hauser A.B., Stinghen A.E., Kato S, et al. // Perit Dial Int – 2008 - №28 – p.S183–S187.
9. Kato S. Aspects of immune dysfunction in end-stage renal disease. / Kato S., Chmielewski M., Honda H., et al. // Clin J Am Soc Nephrol – 2008 - №3 – p.1526 –1533.
10. Kaul H. Initiation of hemodialysis treatment leads to improvement of T-cell activation in patients with end-stage renal disease. / Kaul H, Girndt M, Sester U, et al. // Am J Kidney Dis – 2000 - №35 – p.611– 616.
11. McIntyre C.W. Circulating endotoxemia: a novel factor in systemic inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney

- disease. McIntyre CW, Harrison LE, Eldehni MT, et al. // Clin J Am Soc Nephrol. – 2011 - Jan; 6(1) – p.133-141.
12. Patel U.D. CKD progression and mortality among older patients with diabetes. / Patel UD, Young EW, Ojo AO, et al. // Am J Kidney Dis - №2005 - №46 – p.406 – 414.
13. Vaziri N.D. CKD impairs barrier function and alters microbial flora of the intestine: a major link to inflammation and uremic toxicity. / Vaziri N.D. // Curr Opin Nephrol Hypertens.- 2012 - Nov;21(6) – p. 587-592.
14. 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.
15. Xiaoyuan Wang. Endotoxins: Structure, Function and Recognition./ Xiaoyuan Wang, Peter J. Quinn.//Springer Science+Business Media B.V., 2010 – 415p.

## РЕЗЮМЕ

### АНТІЕНДОТОКСІНОВИХ ІМУННИЙ СТАТУС І РІВЕНЬ СИСТЕМНОГО ЗАПАЛЕННЯ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ХВОРОБУ НИРОК НА ГЕМОДІАЛІЗІ

Білоглазов В. О., Клімчук А. В.

Державна установа «Кримський державний медичний університет імені С.І. Георгієвського», кафедра внутрішньої медицини №2, м. Сімферополь.

Розвиток ускладнень у пацієнтів з хронічною хворобою нирок на гемодіалізі тісно пов'язан з імунною дисфункцією. Метою нашого дослідження було вивчення гуморального і клітинного антиендотоксिनних імунітету, мукозального імунітету і системного запалення у хворих з хронічною хворобою нирок на гемодіалізі, а також вплив на ці показники одного сеансу гемодіалізу. Методи: було обстежено 94 пацієнта з хронічною хворобою нирок V стадії на гемодіалізі, 44 жінки і 50 чоловіків, середній вік  $44,9 \pm 1,3$ . Рівні сироваткових антиендотоксिनних антитіл класів А, М і G, загального секреторного і антиендотоксिनного секреторного імуноглобуліну А змішаної ротової рідини і рівень С-реактивного протеїну визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу (тіФА). Експресію ендотоксин-зв'язуючих рецепторів різних типів на моноцитах і гранулоцитах периферичної крові вивчали методом проточної лазерної цитофлуориметрії. Контрольну групу склали 38 здорових осіб. Результати: У хворих виявлено підвищення антиендотоксिनного IgG в 5,6 разів у порівнянні з нормою ( $p < 0,001$ ), експресія CD14 ( $p = 0,011$ ) та інших ендотоксिनних рецепторів ( $p = 0,002$ ) на моноцитах вище в 1,2 разів. Існує позитивний кореляційний зв'язок між підвищенням CD14 та інших ендотоксिनних рецепторів на моноцитах:  $\tau > 0$  ( $\tau = 0,406$ ), на рівні значущості  $p < 0,01$ .

;  $R_o > 0$  ( $R_o = 0,592$ ), на рівні значущості  $p < 0,01$ . Антиендотоксिनний секреторний IgA був вище норми в 8,7 разів ( $p < 0,001$ ). Рівень С-реактивного протеїну в 8 разів вище норми ( $p < 0,001$ ). Під час одного сеансу гемодіалізу збільшується рівень антиендотоксінних IgG, IgA, експресія CD14 на моноцитах і рівень С-реактивного протеїну. Висновки: у хворих на хронічну хворобу нирок на гемодіалізі є дисфункція гуморального, клітинного антиендотоксінних і мукозального імунітету на тлі високого рівня С-реактивного протеїну, а також зміна їх за один сеанс гемодіалізу.

**Ключові слова:** хронічна хвороба нирок, гемодіаліз, хронічне запалення, ендотоксин, антиендотоксінних імунітет.

## SUMMARY

### ENDOTOXIN IMMUNE STATUS AND THE LEVEL OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN CHRONIC KIDNEY DISEASE PATIENTS ON HEMODIALYSIS

Biloglazov V.A., Klimchuk A.V.

State Establishment «Crimean State Medical University named after S.I. Georgievsky», Department of Internal Medicine № 2, Simferopol

Development of complications in patients with chronic kidney disease on dialysis is closely linked with the immune dysfunction. The purpose of our study was to investigate the humoral and cellular endotoxin immunity, mucosal immunity and systemic inflammation in patients with chronic kidney disease on hemodialysis and the impact on these data one hemodialysis. Methods: The study included 94 patients with chronic kidney disease stage V on hemodialysis, 44 women and 50 men, age  $44,9 \pm 1,3$ . Levels of serum endotoxin antibodies class A, M and G, and the general secretory immunoglobulin A, endotoxin secretory immunoglobulin A in mixed oral fluid and the level of C-reactive protein was determined by ELISA. The expression of different types endotoxin-binding receptors of monocytes, granulocytes of peripheral blood were studied by flow cytofluorometry laser. The control group consisted of 38 healthy people. Results: The patients had increased endotoxin IgG in 5.6 times as compared with normal ( $p < 0,001$ ), the expression of CD14 ( $p = 0.011$ ) and other endotoxin receptor ( $p = 0.002$ ) higher than monocytes in 1.2 times. There is a positive correlation between increased CD14 and other receptors on monocytes endotoxin:  $\tau > 0$  ( $\tau = 0,406$ ), at a significance level of  $p < 0,01$ ;  $R_o > 0$  ( $R_o = 0,592$ ), at a significance level of  $p < 0,01$ . Endotoxin secretory IgA was higher than normal in 8.7 times ( $p < 0,001$ ). C-reactive protein is 8 times higher than normal ( $p < 0,001$ ). During a hemodialysis increased the level endotoxin IgG, IgA, expression of CD14 on monocytes and the level of C-reactive protein. Conclusion: there are humoral and cellular endotoxin immunity dysfunction and mucosal endotoxin immunity dysfunction against the background of high levels of C-reactive protein in patients with chronic kidney disease on hemodialysis, as well as changes in their one hemodialysis session.

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