

© Климчук А.В., 2014

УДК: 616.61.008.64:616.316-008.6:616-07:616-092.

А. В. КЛИМЧУК

**УРОВЕНЬ СЕКРЕТОРНОГО ИММУНОГЛОБУЛИНА А В СЛЮНЕ БОЛЬНЫХ
ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК НА ДИАЛИЗЕ**

A.V. KLIMCHUK

**SECRETORY IMMUNOGLOBULIN A LEVEL IN SALIVA OF CHRONIC KIDNEY
DISEASE PATIENTS ON DIALYSIS**

Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет
имени С.И. Георгиевского», г. Симферополь

State Institution «Crimean State Medical University name after S.I. Georgievskiy», Simferopol

Ключевые слова: *хроническая болезнь почек, перитониальный диализ, гемодиализ, хроническое воспаление, эндотоксин, секреторный иммуноглобулин А, секреторный антиэндотоксиновый иммуноглобулин А.*

Климчук Анастасия Васильевна
anastasiya-klim@mail.ru

Keywords: *chronic kidney disease, peritoneal dialysis, hemodialysis, chronic inflammation, endotoxin, secretory immunoglobulin A, antiendotoxin secretory immunoglobulin A.*

Резюме. Пациенты с хронической болезнью почек, находящиеся на диализе имеют, повышенный уровень маркеров системного воспаления. Эндотоксин грамотрицательных бактерий – один из мощнейших индукторов воспаления и при транслокации из кишечника в крови может запускать провоспалительные реакции. Секреторный иммуноглобулин А (sIgA) на слизистых оболочках нейтрализует действие бактериальных токсинов и препятствует их транслокации, если иммунный ответ адекватен.

Материалы и методы: Обследовано 12 больных с хронической болезнью почек V стадии на постоянном амбулаторном перитонеальном диализе в возрасте от 23 до 54 лет, 8 женщин и 4 мужчин. Также было обследовано 68 пациентов с хронической болезнью почек V стадии, находящихся на программном гемодиализе, в возрасте от 20 до 72 лет, 29 женщин и 39 мужчин. Был изучен уровень общего sIgA, а также антиэндотоксинового sIgA в слюне этих больных методом твердофазного иммуноферментного анализа (тИФА). Контрольную группу составили 33 практически здоровых человека.

Результаты: Уровень общего sIgA у пациентов на гемодиализе и перитонеальном диализе не отличался от показателей нормы. Уровень антиэндотоксинового sIgA в этой группе больных был значительно повышен: в 8,7 раз у пациентов на гемодиализе, Me (25% - 75%)=0,277 (0,174 - 0,564); в 7,3 раза у пациентов на перитонеальном диализе, Me (25% - 75%)=0,233 (0,122- 0,364) по сравнению с показателями нормы. Уровни общего sIgA и антиэндотоксинового sIgA в обеих группах диализных больных между собой достоверно не отличались.

Выводы: Уровень sIgA у пациентов на гемодиализе и перитонеальном диализе не отличается от показателей нормы. Уровень антиэндотоксинового sIgA значительно повышен у пациентов на диализе: в 8,7 раз у пациентов на гемодиализе и в 7,3 раза у пациентов на перитонеальном диализе выше показателей нормы. Межгрупповых отличий уровня антиэндотоксинового sIgA в слюне не выявлено.

Summary. Dialysis patients have elevated levels of markers of inflammation. Endotoxin of gram negative bacteria is one of the most potent inducers of inflammation. Endotoxin translocation from the gut into the blood can trigger proinflammatory response. Secretory immunoglobulin A (sIgA) in the mucous membranes can neutralize bacterial toxins and prevent their translocation, if the immune response is adequate.

Materials and Methods. It was examined 12 patients with CKD stage V on ambulatory peritoneal dialysis patients aged 23 to 54 years, 8 women and 4 men. It was also examined 68 patients with CKD stage V on hemodialysis, aged 20 to 72 years 29 women and 39 men. We studied the levels of total sIgA, and antiendotoxin sIgA in saliva these patient by ELISA. Control group consisted of 33 healthy individuals.

Results. The level of total sIgA in patients on hemodialysis and peritoneal dialysis did not differ from that of the norm. Antiendotoxin sIgA level in this group of patients was significantly increased: 8.7 times in hemodialysis patients, 7.3 times in patients on peritoneal dialysis as compared with the norm. Levels of total sIgA and antiendotoxin sIgA in both groups of dialysis patients between them were not significantly different.

Conclusions. sIgA levels in patients on hemodialysis and peritoneal dialysis patients is not different from that of the norm. Antiendotoxin sIgA level elevated in patients on dialysis: 8.7 times in hemodialysis patients and 7.3 times in patients on peritoneal dialysis, higher than normal. Intergroup differences in the level of antiendotoxin sIgA in the saliva is not revealed.

ВВЕДЕНИЕ. Лечение больных с терминальной хронической почечной недостаточностью (ТХПН) в XXI веке по-прежнему остается одним из актуальных вопросов современной медицины, серьезной социальной и экономической проблемой [3]. В настоящее время основным компонентом комплексной терапии больных ТХПН является диализ. Не смотря на многочисленные технологические достижения в области гемодиализа (ГД) и перитонеального диализа (ПД) и на технические различия этих методов, на протяжении многих лет, смертность пациентов с хронической болезнью почек (ХБП), которые находятся на диализе, остается удручающе высокой [16]. Общепринятым фактором является то, что основной причиной смерти больных с хронической почечной недостаточностью (ХПН) на любой ее стадии, в том числе и среди пациентов на ГД и ПД, в различных странах являются сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) [8]. Хотя существует много традиционных сердечно-сосудистых факторов риска для паци-

ента, находящегося на диализе, (в том числе курение, артериальная гипертензия, сахарный диабет, гиперхолестеринемия, гипертрофия левого желудочка) существуют также и специфичные для ХБП, такие как анемия, гиперфосфатемия и гипергомоцистеинемия, системное воспаление и др. [6]. Известно, что 30-50% пациентов на диализе имеют высокий уровень системного воспаления [17,11], которое может приводить к дестабилизации атеросклеротических поражений [15,12]. Однако, этиопатогенетические факторы его формирования у данной категории больных остаются не до конца изученными.

Роль мощного провоспалительного фактора может играть эндотоксин (ЭТ) грамотрицательной флоры. ЭТ или липополисахарид (ЛПС) – наибольший гликопептидный компонент клеточной стенки грамотрицательной бактерии и потенциальный индуктор воспалительных цитокинов с помощью сигнального пути, инициированного стимуляцией Toll-like рецепторов 4 типа (TLR4) [4]. Его высвобождение происходит при разруше-

нии бактериальной клетки или самообновлении пула. Эндотоксинемия и её последствия могут возникнуть даже при таких заболеваниях и состояниях как травма, ожоги, повышение кишечной проницаемости, попадание в порталный кровоток ЭТ из толстой кишки, которая обильно колонизирована грамотрицательными бактериями. Наличие ЭТ в крови часто является следствием лечения антибиотиками уже существующей бактериальной инфекции [20,21]. Уровень плазменного ЭТ коррелирует с уровнями маркеров воспаления и атеросклероза как в общей популяции [14], так и среди пациентов на диализе [18]. Экспериментальные модели продемонстрировали, что инъекция низких доз ЭТ приводит к значительному снижению эндотелиальных клеток предшественников, что ведет к развитию ССЗ [9].

Секреторный IgA (sIgA), преобладающий в слюне, слезах, секретах желудка и кишечника, желчи, в содержимом легких, бронхов, мочеполовых путей, на слизистых оболочках нейтрализует бактериальные токсины и локализует вирусы, а также стимулирует фагоцитоз, обеспечивая тем самым местную резистентность к инфекции. Таким образом, sIgA является важным элементом местного иммунитета, защищает слизистые оболочки как от поселения на них патогенных микроорганизмов, так и от проникновения последних во внутреннюю среду организма, а также служит барьером для транслокации ЭТ кишечного происхождения [19].

Целью нашего исследования явилось изучение общего sIgA, а также секреторного анти-эндотоксинового иммуноглобулина А (анти-ЛПС-sIgA) в слюне больных на гемодиализе и перитониальном диализе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. В условиях отделения интенсивной нефрологии и диализа Крымского Республиканского Учреждения «КТМО Университетская клиника» было обследовано 12 больных с ХБП V стадии на постоянном амбулаторном ПД в возрасте от 23 до 54 лет, 8 женщин и 4 мужчин. Пациенты получали ПД 3-4 раза в день. Также было

обследовано 68 пациентов с ХБП V стадии, находящихся на программном ГД, в возрасте от 20 до 72 лет, 29 женщин и 39 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).

Общий sIgA и анти-ЛПС-sIgA в ротовой жидкости определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (тИФА) по протоколам, разработанным в лаборатории клинической иммунологии ЦНИЛ ГУ «Крымского государственного медицинского университета имени С.И. Георгиевского» [2]. В качестве антигена использовали коммерческий препарат ЛПС Escherichia coli K235 (Sigma Chem.Co., USA). Специфическим реагентом для выявления анти-ЛПС-sIgA, связавшихся с поверхностью твердой фазы, предварительно сенсibilизированной ЛПС, служил иммунопероксидазный конъюгат овецьих антител, специфичных к sIgA человека (анти-sIgA*HRP). 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 ротовой жидкости 1:10. Контрольную группу составили 33 практически здоровых человека, 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. Донецк) для параметрических и непараметрических критериев.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Данные наших исследований представлены в таблице 1.

Таблица

Уровень общего sIgA и анти-ЛПС-sIgA у больных ХБП на диализе. Ме (25% - 75%).

Показатель	Норма (n=33)	Больные ХБП на ПД	Больные ХБП на ГД
sIgA мг/л	145,8 (89,4- 183,1)	156,1 (89,3 -249,2) n=12 p=0,842	162,9 (83,4 - 264,8) n=68 p=0,341 p1=0,666
анти-ЛПС-sIgA усл.ед.опт.плот	0,032 (0,022 -0,063)	0,233(0,122-0,364) n=10 p<0,001	0,277 (0,174 -0,564) n=63 p<0,001 p1=0,191

Примечание: p – достоверность различий с нормой (p<0,05), p₁ – достоверность различий между соответствующим показателем больных на ПД и на ГД по W-критерию Вилкоксона для двух независимых выборок (p<0,05), n – количество пациентов.

Как видно из таблицы 1, общий sIgA достоверно не отличается от показателей нормы ни у больных ХБП на ГД, ни у больных ХБП на ПД. Однако, мы наблюдаем у этих пациентов значительное достоверное увеличение анти-ЛПС-sIgA по сравнению с нормой, что констатирует факт о существующей повышенной нагрузке ЭТ на слизистые организма, в том числе и кишечника, в этой категории больных, не зависимо от вида диализа. У пациентов на ГД анти-ЛПС-sIgA Me (25% - 75%)=0,277 (0,174 - 0,564) – увеличен в 8,7 раза, а у больных на ПД анти-ЛПС-sIgA Me (25% - 75%)=0,233 (0,122- 0,364) – увеличен в 7,3 раза по сравнению с группой здоровых доноров. Уровни общего sIgA и анти-ЛПС-sIgA в обеих группах больных на диализе между собой достоверно не отличаются.

ОБСУЖДЕНИЕ. Согласно полученным нами данным у больных с ТХПН на ГД и ПД имеет место повышение анти-ЛПС-sIgA на фоне общего sIgA, не выходящего за диапазон нормы. Как трактовать такие выявленные изменения мукозального иммунитета? Являются ли они адекватными для данной категории больных? Последние исследования показали, что циркуляторная эндотоксинемия увеличивается с ростом стадии ХБП и её резкий подъем наблюдается у пациентов с ТХПН при начале ГД. Известно, что ультрафильтрация во время ГД индуцирует системный циркуляторный стресс и рецидивирующую мукозальную и мезентериальную ишемию, что ведет к увеличению транслокации ЭТ из кишечника [10]. Эндотоксинемия распространена и среди пациентов на ПД, а степень эндотоксинемии связана с тяжестью системного воспаления и развитием атеросклеротических поражений [5]. Кроме этого, о нарушении мукозального барьера у этой категории больных свидетельствует развитие перитонитов, вызванных транслокацией грамотрицательной флоры из кишечника [13]. Развитие мезентериальной ишемии у больных на ПД и ГД, и, как следствие, нарушение эпителиального пласта кишечника и повышение его проницаемости, происходит на фоне дисбиотических процессов чрезмерного бактериального роста грамотрицательных микроорганизмов, наблюдающихся у больных с уремией.

Выявленные нами изменения мукозального иммунитета в виде повышения анти-ЛПС-sIgA, по нашему мнению, являются ответом на повышенный эндотоксиновый стимул, вызванный иммунными структурами, ассоциированными со слизистыми оболочками (MALT). Принимая во внимание наличие при этом циркуляторной эндотоксинемии, описанной многими авторами у больных ТХПН, гуморальный анти-эндотоксиновый иммунный ответ не является в функциональном отношении полноценным. Наши предыдущие исследования показали, что

у больных ХБП на ГД в сыворотке крови повышен антиэндотоксиновый IgG [1], что также является отражением чрезмерной транслокации ЭТ в портальную кровь и системную циркуляцию. Почему повышенный анти-ЛПС-sIgA не препятствует чрезмерной транслокации ЭТ во внутренние среды организма? Объяснение этому может быть как в структуре самой молекулы анти-ЛПС-sIgA, так и в возможной низкой аффинности к ЭТ. Бесспорным является то обстоятельство, что повышение анти-ЛПС-sIgA не может адекватно нивелировать повышение проницаемости слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта по отношению к ЭТ. При этом, обращает на себя внимание зарегистрированный факт «нормального» уровня общего sIgA на фоне значительного повышения анти-ЛПС-sIgA, что может свидетельствовать о том, что для организма больного ТХПН приоритетной является именно защита от транслокации ЭТ, который может играть ключевую роль в индукции системного и локального воспаления.

Эти явления требуют дальнейших научных исследований. Безусловно, насущной потребностью для пациентов на ГД и ПД является разработка доказательных методов, способных уменьшить воздействие ЭТ на организм больного с ТХПН.

ВЫВОДЫ:

1. Уровень sIgA в слюне у пациентов с ХБП на ГД и ПД не отличается от показателей нормы.
2. Уровень анти-ЛПС-sIgA значительно повышен у пациентов с ХБП на диализе: в 8,7 раз у пациентов на ГД и в 7,3 раза у пациентов на ПД выше показателей нормы, что функционально не предотвращает эндотоксемию у данной категории больных. Существенных межгрупповых отличий уровня анти-ЛПС-sIgA в слюне не выявлено.
3. Учитывая факт циркуляторной эндотоксинемии у больных ТХПН, целью дальнейших научных исследований является консолидация мукозального барьера и разработка методов уменьшающих воздействие ЭТ на организм больного ХБП.

ЛИТЕРАТУРА:

1. *Белоглазов В.А.* Антиэндотоксиновый иммунный статус и уровень С-реактивного белка у больных хронической болезнью почек, находящихся на гемодиализе. / Белоглазов В.А., Климчук А.В., Гордиенко А.И. // Украинський журнал нефрології та діалізу. - 2012. – додаток №1 до №1(33). – С. 87-89.
2. *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.

3. Колесник М.О. Замісна ниркова терапія в Україні. / Колесник М.О., Сайдакова Н.О. // Український журнал нефрології та діалізу. – 2004. – №2.- С. 6-10.
4. Beutler B. Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin. / Beutler B, Rietschel ET. // Nat Rev Immunol. – 2003. - Feb №3(2). – P.169-176.
5. 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 Clin [et al]. // J Am Soc Nephrol. – 2008. - №3. – P.431-436.
6. Eugenia Papakrivopoulou. Comparison of Volume Status in Asymptomatic Haemodialysis and Peritoneal Dialysis Outpatients. / Eugenia Papakrivopoulou, John Booth Jennifer Pinney, Andrew Davenport. // Nephron Extra. – 2012. – №2. – P.48–54.
7. Hanson L.A. The discovery of secretory IgA and the mucosal immune system. / Hanson LA, Brandtzaeg P. // Immunol Today. – 1993. - №14. – P.416-417.
8. Levey A.S. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: Where do we start? / Levey A.S. // Am J Kidney Dis. – 1998. - №32(5). - P. 5-13.
9. 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.
10. McIntyre CW. 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.
11. Owen W.F. C-reactive protein as an outcome predictor for maintenance hemodialysis patients. / Owen W.F., Lowrie E.G. // Kidney Int. – 1998. - № 54. – P.627–636.
12. Paul M Ridker. Inflammation, C-Reactive Protein and Atherothrombosis. / Paul M. Ridker, Josh D. Silvertown. // J Periodontol. - August 2008 (Suppl.). – Volume 79. – P.1544-1551.
13. Peter Libby. Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. / Peter Libby. // Am J Clin Nutr. – 2006. – 83(suppl). – p.456S– 460S.
14. Rao. Inflammatory biomarkers and cardiovascular risk: association or cause and effect? / Rao M., Jaber B.L., Balakrishnan V.S. // Semin Dial. – 2006. - №19(2). – P.129-135.
15. René R. S. Packard. Inflammation in Atherosclerosis: From Vascular Biology to Biomarker Discovery and Risk Prediction. / René R. S. Packard, Peter Libby. // Clinical Chemistry. – 2008. - №54:1. - P.24–38.
16. Robinson B.M. International haemodialysis patient outcomes comparisons revisited: the role of practice patterns and other factors. / Robinson B.M., Port F. // Clin J Am Soc Nephrol. – 2009. - 4(suppl 1). – P.S12–S17.
17. Stenvinkel P. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. / Stenvinkel P., Heimbürger O., Paultre F., [et al]. // Kidney Int. – 1999. - № 55. – P.1899–1911.
18. Szeto C. C. Endotoxemia is related to systemic inflammation and atherosclerosis in peritoneal dialysis patients. / Szeto C.C., Kwan B.C., Chow K.M. [et al.]. // Clin J Am Soc Nephrol. – 2008. - №3(2). –P.431-436.
- Tomasi T.B. Characteristics of an immune system common to certain external secretions. / Tomasi T.B., Tan E.M., Solomon A., [et al]. // J Exp Med. – 1965. – № 121. – P.101-124.
19. Wiedermann C.J. Association of endotoxaemia with carotid atherosclerosis and cardiovascular disease: Prospective results from the Bruneck Study. / Wiedermann C.J., Kiechl S., Dunzendorfer S., [et al]. // J Am Coll Cardiol. – 1998. - №34. – P.1975–1981.
20. Xiaoyuan Wang. Endotoxins: Structure, Function and Recognition. / Xiaoyuan Wang, Peter J. Quinn. // Springer Science+Business Media B.V., 2010. – 415 p.

Надійшла до редакції 16.12.2013

Прийнята до друку 18.01.2014