

УДК 616-092: 612.017.1: 577.114: 616.61: 616-073

© В.А. Белоглазов, А.В. Климчук, 2013.

АНТИЭНДОТОКСИНОВЫЙ ИММУНИТЕТ И УРОВЕНЬ С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК, НАХОДЯЩИХСЯ НА ДИАЛИЗЕ

В.А. Белоглазов, А.В. Климчук

Кафедра внутренней медицины №2 (зав.кафедрой – проф. В.А. Белоглазов), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь.

ANTIENDOTOXIN IMMUNITY AND THE LEVEL OF C-REACTIVE PROTEIN IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE ON DIALYSIS

V.A. Biloglavov, A.V. Klimchuk

SUMMARY

Death of patients with chronic kidney disease on dialysis are caused by cardiovascular diseases. Chronic inflammation plays the main role in development of atherosclerosis and is an independent risk factor for cardiovascular diseases and mortality in patients with chronic illness of kidneys. Endotoxin is one of the strongest pro-inflammatory factors. However, the endotoxin influence can be blocked by antiendotoxin antibodies. The purpose of our research was to determine the level of endotoxin antibodies of classes G, M, A and the level of C-reactive protein in patients on hemodialysis and constant out-patient peritoneal dialysis. 16 patients with stage 5 chronic kidney disease on peritoneal dialysis and 94 patients on hemodialysis program have been examined. It has been established that in patients on peritoneal dialysis the level of anti-ET-IgG was 4.9 times higher as compared to the group of healthy patients ($p < 0.001$), the levels of anti-ET-IgA and anti-ET-IgM did not differ significantly from the norm values ($p = 0.670$ and $p = 0.880$ correspondingly). The level of C-reactive protein was 8.8 times higher ($p < 0.001$) than the values in healthy donors. In patients on hemodialysis, the level of anti-ET-IgG ($p < 0.001$) was 5.6 times higher and in the level of C-reactive protein ($p < 0.001$) was 8 times higher than in the group of healthy people. The levels of anti-ET-IgA ($p = 0.613$) and anti-ET-IgM ($p = 0.391$) did not differ from the norm values. The levels of antiendotoxin antibodies and C-reactive protein in patients on hemodialysis or peritoneal dialysis did not differ significantly.

АНТИЭНДОТОКСИНОВИЙ ІМУНІТЕТ І РІВЕНЬ С-РЕАКТИВНОГО ПРОТЕЇНУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ХВОРОБУ НИРОК, ЯКІ ЗНАХОДЯТЬСЯ НА ДІАЛІЗІ

В.О. Білоглазов, А.В. Клімчук

РЕЗЮМЕ

Причинами смерті хворих хронічною хворобою нирок на діалізі є серцево-судинні захворювання. Хронічне запалення грає основну роль в розвитку атеросклерозу і є незалежним чинником ризику серцево-судинних захворювань і смертності у хворих хронічною хворобою нирок. Відомо, що ендотоксин є одним з найсильніших прозапальних стимулів. Проте, дія ендотоксину може блокуватися антиендотоксинними антитілами. Метою нашого дослідження стало вивчення рівня антиендотоксинних антитіл класів G, M, A і рівня С-реактивного протеїну у хворих на програмному гемодіалізі і постійному амбулаторному перитонеальному діалізі. Обстежені 16 хворих з хронічною хворобою нирок V стадії на перитонеальному діалізі і 94 пацієнти на програмному гемодіалізі. Встановлено, що у хворих на перитонеальному діалізі є збільшення рівня анти-ЕТ-IgG в 4,9 рази в порівнянні з групою умовно здорових осіб ($p < 0,001$), а рівні анти-ЕТ-IgA і анти-ЕТ-IgM достовірно не відрізнялися від показників норми ($p = 0,670$ і $p = 0,880$ відповідно). Також має місце підвищення рівня С-реактивного протеїну в 8,8 разів ($p < 0,001$) в порівнянні з показниками здорових донорів. У хворих на програмному гемодіалізі відмічено підвищення в 5,6 разів анти-ЕТ-IgG ($p < 0,001$) і в 8 разів С-реактивного протеїну ($p < 0,001$) в порівнянні з групою здорових осіб. Рівні анти-ЕТ-IgA ($p = 0,613$) і анти-ЕТ-IgM ($p = 0,391$) також не відрізнялися від показників норми. Рівні антиендотоксинних антитіл і С-реактивного протеїну у хворих, що знаходяться на гемодіалізі і на перитонеальному діалізі між собою достовірно не відрізнялися.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, перитониальный диализ, гемодиализ, хроническое воспаление, эндотоксин, антиэндотоксинный иммунитет, С-реактивный белок.

В настоящее время основным компонентом комплексной терапии больных терминальной хронической почечной недостаточностью (ТХПН) является диализ. Существуют две основные группы методов почечной заместительной терапии: экстракорпоральные – гемодиализ (ГД) и интракорпоральные – перитонеальный диализ (ПД), применяемый в раз-

личных модификациях. Процедуры ГД и ПД принципиально отличаются друг от друга. Для ГД характерна прерывистая терапия, с выраженными изменениями в состоянии и колебание объема крови и давления, тогда как для ПД характерна непрерывная модальность. Не смотря на эти различия и на многочисленные технологические достижения в

области ГД и ПД на протяжении многих лет, смертность пациентов с хронической болезнью почек (ХБП) находящихся на разных видах диализа практически одинакова и остается удручающе высокой [5,6,11]. Некоторые исследования показали, что 5-летняя выживаемость на диализе аналогична таковой среди пациентов с малигнизацией органов [8,13]. Только несколько докладов соглашаются с выгодой тех пациентов, которые выбирают ПД [18]. Причинами смерти больных на и ГД и ПД являются сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) [7,16]. В настоящее время установлено, что хроническое воспаление играет основную роль в развитии атеросклероза и является независимым фактором риска ССЗ и смертности у больных ХБП [15]. Однако, пути активации иммунной системы до конца не понятны.

Эндотоксин (ЭТ) грам-отрицательной бактерии, как известно, представляет собой молекулу липополисахарида (ЛПС), входящую в структуру наружной стенки бактерий и является одним из самых сильных провоспалительных стимулов [3]. Транслокация ЭТ из кишечника, который обильно колонизирован грам-отрицательными, имеет широкий спектр эффектов на сердечно-сосудистую систему: запускает системное воспаление, атеросклероз и оксидативный стресс [9,17,19].

Пациенты с ХБП подвергаются значительной эндотоксинемии. Циркуляторная эндотоксинемия увеличивается с ростом стадии ХБП и её резкий подъем наблюдается у пациентов с ТХПН при начале ГД. Индуцированные ГД системный циркуляторный стресс и рецидивирующая регионарная ишемия могут вести к увеличению транслокации ЭТ из кишечника. Эндотоксинемия у этих больных ассоциируется с системным воспалением и увеличением смертности [10]. Известно также, что эндотоксинемия распространена и среди пациентов на ПД, кроме этого степень эндотоксинемии у этих больных связана с тяжестью системного воспаления и атеросклероза [4].

Однако, негативные провоспалительные эффекты воздействия ЭТ могут нивелироваться иммунной системой (в том числе антиэндотоксиновыми антителами) если её ответ адекватен уровню эндотоксинемии. Исследования продемонстрировали корреляцию между наличием антител к ЭТ и выживаемостью пациентов с грам-негативным сепсисом [12,19].

Исходя из этого целью нашего исследования явилось изучение уровня анти-ЭТ-антител и уровня С-реактивного белка (СРБ) у больных на программном ГД и ПД.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В условиях отделения интенсивной нефрологии и диализа КРУ «КТМО Университетская клиника» г. Симферополя было обследовано 16 больных с ХБП V стадии на постоянном амбулаторном перитонеальном диализе в возрасте от 32 до 75 лет, 13 женщин и

3 мужчин. Пациенты получали ПД 3-4 раза в день. Также было обследовано 94 пациента находящихся на программном гемодиализе, в возрасте от 18 до 75 лет, 46 женщин и 48 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).

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» [1,2]. 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. Донецк) для параметрических и непараметрических критериев.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные изучения гуморального антиэндотоксинового иммунитета и концентрацию в периферической крови СРБ у больных ХБП на ПД и ГД представлены в таблице 1.

Из полученных данных нами установлено, что у больных ХБП V 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 отличались от показателей нормы ($p = 0,670$ и $p = 0,880$ соответственно). Кроме этого мы наблюдали у этих больных значительное повышение уровня СРБ - в 8,8 раз ($p < 0,001$) по сравнению с показателями здоровых доноров.

У больных получающих программный ГД мы также отмечали 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 ($p = 0,391$).

Результаты уровней анти-ЭТ-IgG, анти-ЭТ-IgA, анти-ЭТ-IgM и уровень СРБ у больных находя-

щихся на программном ГД достоверно не отличались от этих показателей у больных на ПД.

Таблица 1

Гуморальный антиэндотоксиновый иммунитет и уровень С-реактивного белка у больных ХБП, находящихся на перитониальном диализе и гемодиализе.

Показатель	Статистический показатель	Норма	Больные ХБП ГД	Больные ХБП ГД
Анти-ЭТ-IgG сл.ед.опт.плот	M ± m n	0,166±0,012 30	0.818±0,085 16 p<0,001	0,929±0,037 94 p<0,001 p ₁ =0,253
Анти-ЭТ-IgA сл.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) 94 p=0,613 p ₁ =0,376
Анти-ЭТ-IgM сл.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) 94 p=0,391 p ₁ =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) 94 p<0,001 p ₁ =0,440

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; n – количество обследуемых больных.

Известно, что при начале лечения ГД наблюдается резкий рост циркуляторной эндотоксинемии у пациентов с ХБП. 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 преддиализный ЭТ коррелирует с плазменным сердечным тропонином Т и высокочувствительным СРБ, а эндотоксинемия ассоциируется с системным воспалением и снижением выживания [10]. Кроме этого, исследования продемонстрировали, что транслокация кишечной флоры является причиной грамотрицательные перитонита у пациентов с ПД [14]. Исходя из этого, можно судить, что у больных ТХПН на ПД также присутствует нарушение кишечного барьера, что, в свою очередь, может быть причиной эндотоксинемии, описанной многими авторами, этой категории пациентов.

Ассоциация высоких уровней анти-ЭТ-IgG и СРБ у пациентов получающих программный ГД и ПД может свидетельствовать о наличии хронической эндотоксинемии, вносящей свой вклад в развитие системного воспаления у больных с ТХПН и,

как видно из полученных нами 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 эффектов ЭТ.

Вероятно, развитие методов снижающих уровень ЭТ у этих больных, а особенно 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 ТХПН на диализе.

ВЫВОДЫ

1. У больных ХБП, находящихся на ГД и ПД уровень анти-ЭТ-IgG повышен до M=0,929±0,037 и M=0.818±0,085 соответственно, на фоне анти-ЭТ-IgA и анти-ЭТ-IgM не выходящих за пределы нормы в обеих группах пациентов.

2. Во всех обследуемых группах больных зарегистрировано повышение концентрации СРБ.

3. Межгрупповых различий по изучаемым параметрам не выявлено.

4. Дальнейшее изучение эндотоксинемии и антиэндотоксинового иммунитета у больных на диализе, которые могут являться недостающим звеном в понимании патфизиологии хронического воспаления этой категории больных, может предоставить множество новых потенциальных терапевтических стратегий по улучшению качества жизни и уменьшению смертности среди пациентов с ТХПН.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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.

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. Barclay G.R. Endotoxin-core antibodies: time for a reappraisal./ Barclay G.R. //Intensive Care Med.-1999.- Vol.25,№5.- P. 427-429

4. 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.

5. Davenport A. Can advances in haemodialysis machine technology prevent intradialytic hypotension? / Davenport A. // Seminars Dialysis – 2009 -№ 22 – p.231–236.

6. Davenport A. Membrane designs and composition for hemodialysis, hemofiltration and hemodiafiltration: past, present and future. / Davenport A // Minerva Urol Nefrol – 2010 - № 62- p. 29–40.

7. Eugenia Papakrivopoulou. Comparison of Volume Status in Asymptomatic Haemodialysis and Peritoneal Dialysis Outpatients./ Eugenia Papakrivopoulou, John Booth, Jennifer Pinney, [et al] / Nephron Extra- 2012- № 2 – p.48–54.

8. Lang K. Factors associated with improved survival among older colorectal cancer patients in the US: a population-based analysis. / Lang K., Korn J.R.,

Lee D.W. [et al] // BMC Cancer – 2009 - № 9 – 227p.

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 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.

11. 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.

12. Pollack M. Enhanced survival in Pseudomonas aeruginosa septicemia associated with high levels of circulating antibody to Escherichia coli endotoxin core. / Pollack M., Huang A.I., Prescott R.K., [et al] // J Clin Invest – 1983 - № 72 – p.1874–1881.

13. 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.

14. Selgas R. Peritoneal dialysis in liver disorders. / Selgas R., Bajo M.A., Jimenez C. [et al] // Perit Dial Int – 1996 - №16 (Suppl 1) – p.S215–S219.

15. Stenvinkel P. Inflammation in end-stage renal failure: Could it be treated? / Stenvinkel P. // Nephrol Dial Transplant - №17(Suppl 8) – 2002 – p.S33–S38.

16. 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.

17. 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.

18. 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.

19. Xiaoyuan Wang. Endotoxins: Structure, Function and Recognition./ Xiaoyuan Wang, Peter J. Quinn.// Springer Science+Business Media B.V., 2010 – 415p.