

ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО ДИАЛИЗА С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ РИСКА К РАЗВИТИЮ ПЕРИТОНИТА

Б. Ю. Гумилевский, О. П. Гумилевская, О. Г. Кабурнеева

*Кафедра иммунологии и аллергологии ВолгГМУ,
Волгоградский областной уронефрологический центр*

В статье представлены данные, характеризующие особенности иммунного статуса пациентов с терминальной хронической почечной недостаточностью, находящихся на перитонеальном диализе, в зависимости от предрасположенности к развитию диализного перитонита. Показано, что частота развития и тяжесть течения диализного перитонита зависят от степени угнетения механизмов врожденного и адаптивного иммунитета, нарушений цитокиновой иммунорегуляции.

Ключевые слова: диализный перитонит, терминальная хроническая почечная недостаточность, клеточный и гуморальный иммунитет.

PECULIARITIES OF IMMUNOLOGICAL DISORDERS IN PERITONEAL DIALYSIS PATIENTS WITH VARYING DEGREES OF RISK OF DEVELOPMENT OF PERITONITIS

B. Yu. Gumilevskiy, O. P. Gumilevskaya, O. G. Kaburneeva

This article presents data characterizing the peculiarities of immune status of patients with terminal stage renal disease receiving peritoneal dialysis, depending on susceptibility to dialysis peritonitis. It was shown that frequency of incidence and severity of the course of dialysis peritonitis depend on the extent of innate depression mechanisms and adaptive immunity, as well as imbalance of cytokine immunoregulation.

Key words: dialysis peritonitis, terminal stage renal disease, cellular and humoral immunity.

Перитонеальный диализ (ПД) является методом заместительной почечной терапии больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности. Усовершенствование и развитие техники проведения данного вида диализа позволило решить проблему его адекватности и эффективности. Экономические и физиологические преимущества этого метода дают возможность рассматривать его как первоочередной и наиболее оптимальный вид заместительной почечной терапии [1, 3]. Однако длительность лечения перитонеальным диализом по-прежнему остается ограниченной. Основной причиной неблагоприятного исхода лечения ПД является инфекционный перитонит [2, 6]. Нужно отметить, что для терминальной хронической почечной недостаточности (тХПН) характерны нарушения в иммунной системе, которые обусловлены действием уремических токсинов [9, 10]. С началом заместительной почечной терапии факторы, повреждающие иммунокомпетентные клетки, частично устраняются. В то же время сам процесс диализа постоянно стимулирует и активирует клетки иммунной системы, приводя к состоянию хронического воспаления [4, 8]. Можно предположить, что частота развития и тяжесть течения диализного перитонита будут зависеть от выраженности и специфики дисфункций клеточного и гуморального звена иммунитета.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявить взаимосвязь между частотой развития и характером течения диализного перитонита и состояни-

ем иммунной системы у больных тХПН, находящихся на лечении перитонеальным диализом.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 75 пациентов с тХПН, находящихся на лечении перитонеальным диализом в Волгоградском областном уронефрологическом центре, в возрасте от 21 до 60 лет (средний возраст — $45,1 \pm 1,97$). Для выявления взаимосвязи между состоянием клеточного и гуморального звена иммунитета и развитием диализного перитонита больные с тХПН, получающие перитонеальный диализ, были разделены на 3 группы. Первую группу (25 человек) составляли пациенты без диализных перитонитов в анамнезе. Вторая группа (25 человек) представлена пациентами, в анамнезе которых было отмечено более двух эпизодов перитонита, характеризующихся легким течением. В третью группу (25 человек) вошли пациенты, в анамнезе которых отмечено более двух эпизодов перитонита, характеризующихся тяжелым течением. Контрольную группу составили 20 здоровых лиц, сопоставимых по возрасту и с равномерным распределением по полу.

Так как исследование носило ретроспективный характер, забор венозной крови и последующее определение параметров иммунного статуса у всех пациентов осуществлялись в первый год начала лечения перитонеальным диализом в период вне инфекционных осложнений. Дальнейшее наблюдение исследуемых лиц позволило провести разделение их на группы в зависимости от частоты развития и характера течения диализного перитонита.

Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови проводили методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител, меченных ФИТЦ, к поверхностным антигенам лимфоцитов CD2+, CD3+, CD4+, CD8+ и CD19+ фирмы «BD» (США). Был определен уровень Т-лимфоцитов (CD2+, CD3+), Т-хелперов (CD4+), Т-цитотоксических лимфоцитов (CD8+) и В-лимфоцитов (CD19+). Исследование фагоцитарной активности нейтрофилов проводилось с помощью 1%-й взвеси пекарских дрожжей и включало определение фагоцитарного показателя (ФП, %) и фагоцитарного числа (ФЧ). Оценка уровня цитокинов IL-2, IL-4, IL-10 в сыворотке крови осуществлялась методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА), с использованием тест-систем ООО «Цитокин» (Россия). Исследование уровня сывороточных иммуноглобулинов класса IgA, IgM, IgG проводили методом ИФА наборами реагентов фирмы «Хема» (Россия). Статистическую обработку результатов выполняли с использованием программного обеспечения Statistica 6.1. стандартными методами с оценкой статистической значимости показателей по критерию Стьюдента с достоверностью различий ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования состава субпопуляций лимфоцитов были выявлены признаки иммунодепрессии. Так, у пациентов с тХПН во всех трех группах значимо снижен уровень лимфоцитов [(1610,6 ± 71,6) кл/мкл в 1-й группе, (1546,6 ± 112,0) кл/мкл во 2-й группе и (1293 ± 79,4) кл/мкл в 3-й группе против (2357,2 ± 125,7) кл/мкл у здоровых лиц, $p < 0,05$] при неизменном общем количестве лейкоцитов [(7379,2 ± 347,3), (7021,7 ± 326,0), (6750 ± 341,9) и (6457,1 ± 331,4) кл/мкл соответственно]. При этом лимфопения характеризовалась снижением уровня как Т-лимфоцитов (CD2+, CD3+, CD4+, CD8+), так и В-лимфоцитов (CD19+). То есть, несмотря на проведение пе-

ритонеального диализа, повреждающее действие уремических токсинов на лимфоцитарные клетки сохранялось. У пациентов, предрасположенных к тяжелому течению перитонита, снижение общего количества лимфоцитов было более выражено и достоверно отличалось от такового у пациентов, лечение которых проходило без осложнений [(1293 ± 79,4) кл/мкл против (1610,6 ± 71,6) кл/мкл, $p < 0,05$]. Это свидетельствует о более выраженном иммунодефиците и, как следствие, снижении активности иммунного ответа на внедрение патогена. При этом лимфопения пациентов третьей группы характеризовалась более низким уровнем [CD2+ (785 ± 64) кл/мкл, CD3+ (750 ± 46) кл/мкл, CD4+ (495 ± 31) кл/мкл] лимфоцитов по сравнению с уровнем этих субпопуляций у пациентов без перитонитов [CD2+ (1092 ± 55) кл/мкл, CD3+ (1018 ± 58) кл/мкл, CD4+ (679 ± 47) кл/мкл, $p < 0,05$] и у пациентов с легким течением перитонитов [CD2+ (1030 ± 73) кл/мкл, CD3+ (962 ± 67) кл/мкл, CD4+ (646 ± 50) кл/мкл, $p < 0,05$] (табл. 1).

Таким образом, относительно контрольной группы процент снижения абсолютного числа Т-лимфоцитов (CD3+) в 1-й и во 2-й группах был равен 32,6 и 36,3 % соответственно, а в 3-й группе 49,7 %. Процентное снижение Т-хелперов (CD4+) было равно 31 % в 1-й группе, 34,3 % во 2-й группе и 49,7 % в 3-й группе. То есть у пациентов с тХПН, находящихся на перитонеальном диализе, отмечалось стойкое снижение уровня циркулирующих в периферической крови Т-лимфоцитов с различной степенью выраженности. Значительное снижение общего количества Т-лимфоцитов (CD2+, CD3+), в частности Т-хелперов (CD4+), с одновременным пониженным содержанием В-лимфоцитов свидетельствует о депрессии механизмов адаптивного иммунитета. Это может быть фактором, способствующим развитию частых диализных перитонитов с тяжелым характером течения.

В этих условиях состояние механизмов врожденного иммунитета имеет особое значение. Особенно функциональное состояние главных фагоцитов организма —

Таблица 1

Субпопуляции лейкоцитов у больных с тХПН, получающих лечение перитонеальным диализом, кл/мкл

Показатель	Пациенты на ПД без перитонитов	Пациенты на ПД с легким течением перитонитов	Пациенты на ПД с тяжелым течением перитонитов	Контрольная группа (здоровые лица)
Лейкоциты	7379 ± 347	7021 ± 326	6750 ± 342	6457 ± 331
Нейтрофилы	4980 ± 311*	4690 ± 242*	4759 ± 291*	3543 ± 182
Лимфоциты	1610 ± 72*	1546 ± 112*	1293 ± 79* [#]	2357 ± 126
CD2+	1092 ± 55*	1030 ± 73*	785 ± 64* [#]	1642 ± 99
CD3+	1018 ± 58*	962 ± 67*	750 ± 46* [#]	1510 ± 102
CD4+	679 ± 47*	646 ± 50*	495 ± 32* [#]	983 ± 59
CD8+	399 ± 22*	367 ± 28*	336 ± 24*	683 ± 42
CD19+	234 ± 25*	222 ± 17*	242 ± 22*	349 ± 32

* Значимые различия от здоровых, $p < 0,05$;

* значимые различия от группы без перитонитов, $p < 0,05$;

значимые различия от группы с легким течением перитонитов, $p < 0,05$.

нейтрофилов, которые во многом определяют характер реакций при противомикробной защите. Оказалось, что количество нейтрофилов у пациентов, получающих лечение перитонеальным диализом, достоверно выше, чем у здоровых лиц [(4981 ± 311) кл/мкл в 1-й группе, (4690 ± 242) кл/мкл во 2-й группе и (4759 ± 291) кл/мкл в 3-й группе против (3543 ± 182) кл/мкл в контрольной группе, $p < 0,05$]. Но, несмотря на повышенный уровень, фагоцитарная активность нейтрофилов была значительно снижена у всех исследуемых пациентов с тХПН. Полученные результаты подтверждают факт негативного влияния уремии на способность нейтрофилов к фагоцитозу [7]. При сравнении ФП было выявлено, что у пациентов, лечение которых в дальнейшем проходило без осложнений диализным перитонитом, ФП был снижен в 1,32 раза, а у пациентов, в анамнезе которых отмечались перитониты с легким течением, ФП был снижен в 1,41 раза. При этом у пациентов, предрасположенных к тяжелому течению диализного перитонита, ФП был снижен в 1,63 раза и достоверно отличался от ФП пациентов без перитонитов (рис.). Значение ФЧ также оказалось более низким у пациентов 3-й группы (3,38 в 1-й группе, 3,29 во 2-й группе и 2,7 в 3-й группе против 4,98 в контрольной группе, $p < 0,05$).

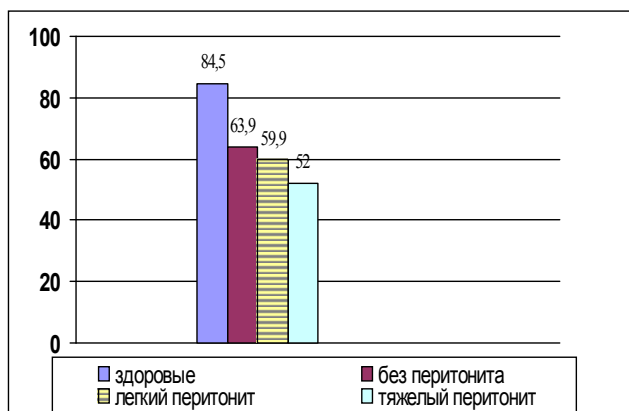


Рис. Фагоцитарный показатель нейтрофилов крови у обследованных пациентов, %

На функциональное состояние иммунокомпетентных клеток и их готовность к реагированию на бактериальные стимулы существенное влияние оказывают цитокины. Эффективность противомикробного иммунитета во многом определяется балансом между уровнем продукции про- и противовоспалительных цитоки-

нов. Известно, что для пациентов с тХПН свойственно состояние системного воспаления [5], поскольку факторы, связанные с процедурой перитонеального диализа, приводят к гиперпродукции провоспалительных цитокинов.

Исследование уровней ключевых противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 позволило выяснить, что концентрация IL-4 в периферической крови у пациентов с тХПН, находящихся на перитонеальном диализе, значимо снижена. Межгрупповых различий в содержании IL-4 обнаружить не удалось [(3,06 ± 0,46) пг/мл в 1-й группе, (3,08 ± 0,36) пг/мл во 2-й группе и (3,95 ± 0,4) пг/мл в 3-й группе против (6,44 ± 0,48) пг/мл в контрольной группе, $p < 0,05$]. В то же время уровень IL-10 в сыворотке крови пациентов с неосложненным течением лечения был достоверно выше, чем у пациентов, лечение которых в дальнейшем сопровождалось развитием легких и тяжелых перитонитов [(7,8 ± 0,73) пг/мл во 2-й группе и (7,2 ± 0,54) пг/мл в 3-й группе против (9,76 ± 0,76) пг/мл в 1-й группе, $p < 0,05$]. При этом содержание IL-10 у пациентов без перитонитов и у лиц здоровой группы не отличались (табл. 2). Так как уремия и действие диализирующего раствора на брюшину стимулируют повышение синтеза провоспалительных цитокинов, то можно предположить, что при одновременном низком уровне противовоспалительных цитокинов возникает дисбаланс, который приводит к развитию длительного воспалительного процесса.

Для оценки гуморального иммунитета были определены сывороточные иммуноглобулины класса А, М и G. Оказалось, что концентрация иммуноглобулина G в сыворотке крови пациентов, распределенных в первую и во вторую группу, была значительно выше, чем у пациентов с предрасположенностью к тяжелым перитонитам и у здоровых лиц [(25,9 ± 0,99) и (28,23 ± 0,73) г/л против (21,17 ± 1,15) и (19,03 ± 0,73) г/л соответственно, $p < 0,05$] (табл. 3).

Высокий сывороточный уровень IgG может рассматриваться как показатель хронического системного воспаления, характерного для пациентов с уремией. Относительно низкое значение IgG у пациентов третьей группы может быть следствием нарушенной активации В-лимфоцитов. В то же время уровень IgM в сыворотке крови пациентов первой и второй группы имеет тенденцию к повышению. При этом достоверные отличия в концентрации IgM выявлены только между второй и третьей группами.

Таблица 2

Концентрация цитокинов в периферической крови пациентов с тХПН, находящихся на перитонеальном диализе, пг/мл

Показатель	Пациенты на ПД без перитонитов	Пациенты на ПД с легким течением перитонитов	Пациенты на ПД с тяжелым течением перитонитов	Контрольная группа (здоровые лица)
IL-4	3,06 ± 0,46*	3,08 ± 0,36*	3,95 ± 0,4*	6,44 ± 0,48
IL-10	9,76 ± 0,76	7,80 ± 0,73**	7,2 ± 0,54**	9,72 ± 0,83

* Значимые различия со здоровыми лицами, $p < 0,05$;

** значимые различия с группой без перитонитов, $p < 0,05$.

Уровни сывороточных иммуноглобулинов у пациентов с тХПН, находящихся на перитонеальном диализе, г/л

Показатель	Пациенты на ПД без перитонитов	Пациенты на ПД с легким течением перитонитов	Пациенты на ПД с тяжелым течением перитонитов	Контрольная группа (здоровые лица)
IgA	2,27 ± 0,27	2,25 ± 0,24	1,97 ± 0,31	1,81 ± 0,29
IgM	2,68 ± 0,31	3,06 ± 0,24*	2,37 ± 0,21 [#]	2,26 ± 0,28
IgG	25,9 ± 0,99*	28,23 ± 0,73*	21,17 ± 1,15 ^{*#}	19,03 ± 0,73

* Значимые различия со здоровыми лицами, $p < 0,05$;

[#] значимые различия с группой без перитонитов, $p < 0,05$;

[#] значимые различия с группой с легким течением перитонитов, $p < 0,05$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Лечение перитонеальным диализом пациентов с тХПН начинается на фоне сформировавшегося иммунопатологического состояния, связанного с дисфункцией клеточного и гуморального звена иммунной системы. Нарушения в системе иммунитета неоднородны и выражаются в различных вариантах иммунных сдвигов.

2. Дефицит клеточного звена иммунитета с преимущественным уменьшением количества Т-лимфоцитов (CD2+, CD3+, CD4+), а также снижением фагоцитарной активности нейтрофилов является фактором, способствующим развитию частых диализных перитонитов с тяжелым характером течения.

3. Характер иммунного ответа при развитии диализного перитонита зависит от баланса цитокинового профиля. В условиях системного воспаления большое значение в регуляции противoinфекционной защитной реакции имеет уровень IL-10.

4. Риск развития диализного перитонита возрастает у пациентов с признаками гипореактивности гуморального иммунитета, проявляющегося в уменьшении уровня В-лимфоцитов и снижении концентрации IgG.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрусев А. М. // Альманах клинической медицины. — 2009. — № 20. — С. 36—45.

2. Андрусев А. М. // Нефрология и диализ. — 2005. — Т. 7, № 2. — С. 110—130.

3. Бикбов Б. Т., Томилина Н. А. // Нефрология и диализ. — 2009. — Т. 11, № 3. — С. 146—221.

4. Гуревич К. Я., Константинов Ю. В., Шумилкин В. Р. и др. Перитонеальный диализ: методические рекомендации для врачей. — СПб, 2003. — 98 с.

5. Жданова Т. В., Назаров А. В., Шалаев В. А. и др. // Нефрология. — 2004. — Т. 8, № 4. — С. 62—67.

6. Тройдл Л. К., Клигер А. С., Финкельштейн Ф. О. // Нефрология и диализ. — 2000. — Т. 2, № 4. — С. 335—339.

7. Anding K., Gross P., Rost J. M., et al. // Nephrol Dial Transplant. — 2003. — Vol. 18. — P. 2067—2073.

8. Glik A., Douvdevani A. // Perit. Dial. Int. — 2006. — Vol. 26, № 4. — P. 438—448.

9. Herget-Rosenthal S., Glorieux G., Jankowski J., et al. // Seminars in Dialysis. — 2009. — Vol. 22, № 4. — P. 445—448.

10. Kato S., Chmielewski M., Honda N., et al. // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. — 2008. — Vol. 3. — P. 1526—1533.

Контактная информация

Гумилевский Борис Юрьевич — д. м. н., профессор, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики ВолГМУ, e-mail: gumbu@mail.ru