

УДК 616.36-004: 616.149-008.341.1

ЗНАЧЕНИЕ ФАКТОРОВ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА LBP И sCD₁₄ ПРИ ЦИРРОЗЕ ПЕЧЕНИ

Левитан Б.Н., Касьянова Т.Р., Волошина О.А.

ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия Минздрава России», Астрахань, e-mail: agma@astranet.ru

У 120 больных циррозом печени проведено исследование крови на содержание липополисахаридсвязывающего белка и растворимого кластера дифференцировки. Изменения данных показателей варьируются в большом диапазоне и могут возрастать у больных циррозом печени в среднем в 3–5 раз. Уровень факторов неспецифического иммунитета в целом превышает нормальные значения у 88% и 87% обследованных пациентов и его содержание в крови зависит от активности печеночного процесса, выраженности печеночно-клеточной недостаточности и проявлений портальной гипертензии. Наличие асцита и варикозно расширенных вен пищевода III–IV ст. в большей мере оказывали влияние на содержание изучаемых показателей, что вероятно, связано с наличием обширной сети порто-кавальных анастомозов и сбросом крови с эндотоксинами по ним в общий кровоток со стимуляцией эндотоксинового иммунитета.

Ключевые слова: цирроз печени, липополисахаридсвязывающий белок, растворимый кластер дифференцировки, портальная гипертензия

THE SIGNIFICANCE OF THE FACTORS OF NONSPECIFIC IMMUNITY LBP AND sCD₁₄ AT CIRRHOSIS OF THE LIVER

Levitan B.N., Kasyanova T.R., Voloshina O.A.

Astrakhan State Medical Academy, Health Ministry of Russia, Astrakhan, e-mail: agma@astranet.ru

In 120 patients with cirrhosis of the liver, conducted a study of the blood on the content of protein connecting lipopolysaccharide and soluble cluster of differentiation. Changes of these indicators varies in wide range and may increase in patients with cirrhosis of the liver in average 3–5 times. The level of inherent immunity factors in general exceeds the normal values of 88% and 87% of patients studied, and its content in the blood depends on the activity of hepatic process, the severity of hepatocellular insufficiency and manifestations of portal hypertension. The presence of ascites and esophageal varices III-IV century largely influenced the content of the studied indexes, which was probably related to the presence of an extensive network of porto-cavernous anastomoses, and the dumping of blood them into the blood endotoxin stream with the stimulation of endotoxin immunity.

Keywords: liver cirrhosis, protein connecting lipopolysaccharide, soluble cluster of differentiation, portal hypertension

Эндотоксины грамотрицательных бактерий и синдром эндотоксемии являются важными факторами патогенеза цирроза печени (ЦП), в значительной степени определяющими особенности течения заболевания и его прогноз [1, 3, 4]. Наиболее густо заселенной экосистемой человеческого организма является микробиоценоз толстого кишечника, ведущее место в котором занимают грамотрицательные бактерии [4, 5, 6]. Основным компонентом их внешней оболочки является липополисахарид (LPS), состоящий из иммуногенной полисахаридной части и консервативной липидной, связанной с токсичностью LPS. В настоящее время общепризнанным является факт наличия физиологической системной эндотоксинемии, которая поддерживает физиологическую активацию иммунной системы [2, 5, 7, 9].

Нарушение барьерной функции кишечника, имеющее место при развитии у больных ЦП синдрома портальной гипертензии (ПГ), приводит к транслокации LPS в системный кровоток [2, 8, 9, 10, 11].

Доказано, что позитивные и негативные эффекты LPS опосредуются рецепторным комплексом, состоящим из нескольких молекул [1, 2, 3]. В организме LPS вступает

в контакт с LPS-связывающим протеином (LBP), мембранным кластером дифференцировки CD₁₄ (mCD₁₄) и растворимой формой CD₁₄ (sCD₁₄) [2, 4, 6, 7]. Взаимодействие CD₁₄ с эндотоксином запускает каскад реакций, в результате которых происходит активация всех основных клеточных функций, связанных с развитием фагоцитоза, продукцией оксида азота и свободных форм кислорода, синтезом медиаторов воспаления и группы провоспалительных цитокинов. [3, 7, 11]. CD₁₄ и LBP являются интегральными составляющими врожденного иммунного ответа на инфекцию [3].

Необходимость изучения маркеров эндотоксемии обусловлена ее важной ролью в развитии патологического процесса в печени и его прогрессирования. Причем диагностическое значение имеет не только определение уровня эндотоксина в крови, но и оценка состояния антиэндотоксинового иммунитета (АЭИ), ведущими показателями которого являются LBP и sCD₁₄.

Целью работы стало установление диагностической ценности исследования концентрации LBP и sCD₁₄ как показателей неспецифического иммунитета, участвующих в патогенетических механизмах при ЦП.

Материалы и методы исследования

Было обследовано 120 больных ЦП (66 мужчин и 54 женщины в возрасте от 20 до 70 лет), проходивших лечение в гастроэнтерологическом отделении ГУЗ «Александро-Мариинская областная клиническая больница» г. Астрахани. Группу контроля (ГК) составили 25 практически здоровых людей.

Больные обследованы в стационаре в стадии обострения их основного заболевания. Диагностика ЦП осуществлялась на основании комплекса клинико-лабораторных и инструментальных показателей в соответствии с существующими стандартами.

Умеренная степень активности воспалительного процесса в печени диагностирована у 87 пациентов, высокая степень – у 33. Преобладала вирусная и смешанная (вирусно-алкогольная) этиология заболевания.

Уровень LBP и sCD₁₄ исследовался в ЭДТА-плазме методом иммуноферментного анализа с помощью иммуноферментных систем фирмы NuCult biotechnology (Нидерланды).

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Для количественного сравнения признаков 3-х и более несвязанных групп использовались непараметрический критерий Краскела–Уоллиса (λ), а также параметрический критерий Стьюдента (t). Корреляционный анализ проводился с вычислением коэффициента ранговой корреляции Спирмана. Различия считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты обследования и их обсуждение

В ГК уровень LBP составил $13,5 \pm 0,9$ нг/мл, а sCD₁₄ – $2,7 \pm 0,3$ нг/мл. При сравнении средних величин LBP и sCD₁₄ у больных ЦП с результатами, полученными в ГК, выявлен рост обоих показателей. Так, концентрация LBP возрастала до $43,0 \pm 1,4$ нг/мл ($p = 0,0001$) с достаточно большим разбросом значений – от 10,4 до 58,3 нг/мл, а sCD₁₄ – до $5,4 \pm 0,2$ нг/мл ($p = 0,0002$) с вариабельностью показателя – от 1,4 до 8,6 нг/мл. В целом превышение нормальных значений LBP отмечено у 88%, sCD₁₄ – у 87% пациентов с ЦП.

Этиология заболевания существенного влияния на изменения изучаемых показателей не оказывала, хотя у больных со смешанными (вирус + алкоголь) ЦП средние значения были максимальными ($p = 0,12$). При анализе больных ЦП вирусной этиологии выявлено, что сочетание вирусов HBV и HCV, наблюдалось в 15% случаев. При таком неблагоприятном варианте этиологического воздействия достаточно значимо увеличивался LBP до $49,8 \pm 1,3$ нг/мл при меньшем росте sCD₁₄. Такие изменения, вероятно, связаны с влиянием аутоиммунной агрессии в патогенезе болезней печени и большей активацией антиэндоксиновой защиты.

Активность патологического процесса в печени в целом влияла на изменения

плазменных уровней обоих изучаемых показателей, и эти изменения были более характерны для LBP ($p = 0,08$), чем для sCD₁₄ ($p = 0,33$). Выявлены положительные корреляции между LBP и АЛТ ($r = 0,45$), общим билирубином ($r = 0,36$), непрямой фракцией билирубина ($r = 0,34$), ЦИК ($r = 0,47$), а также между sCD₁₄ и АЛТ ($r = 0,34$), общим билирубином ($r = 0,37$). Корреляция между LBP и sCD₁₄ составила $r = 0,52$.

Для характеристики ЦП важное значение имеет такой интегративный показатель, как класс тяжести заболевания по Child-Pugh. Для выяснения влияния степени функциональной недостаточности печени в соответствии с данной классификацией больные с ЦП были распределены по трем классам (А, В, С). Большинство больных относились к классу «В» (55,8%), в меньшей степени – к классам «А» (24,2%) и «С» (20%). Выяснилось, что во всех трех подгруппах значения LBP существенно отличались от нормы и составили при ЦП класса «А» $37,9 \pm 2,1$ нг/мл, класса «В» – $43,8 \pm 2,5$ нг/мл, класса «С» – $53,6 \pm 2,3$ нг/мл ($\lambda^2 = 5,61$, $p = 0,048$).

Аналогичные результаты получены и при анализе средних значений sCD₁₄: $4,8 \pm 0,3$ нг/мл у больных ЦП класса «А»; $5,3 \pm 0,5$ нг/мл – класса «В» и $5,9 \pm 0,7$ нг/мл – класса «С» ($\lambda^2 = 6,3$, $p = 0,042$). Распределение показателей LBP и sCD₁₄ у больных ЦП в зависимости от градации по Child-Pugh отражено на рисунке.

Как известно, тяжесть ЦП и его прогноз во многом зависят от выраженности проявлений ПГ. В связи с этим были сопоставлены уровни исследуемых показателей неспецифического иммунитета у пациентов с наличием таких проявлений ПГ, как асцит, варикозно-расширенные вены пищевода (ВРВП), гиперспленизм и без них. Результаты представлены в таблице.

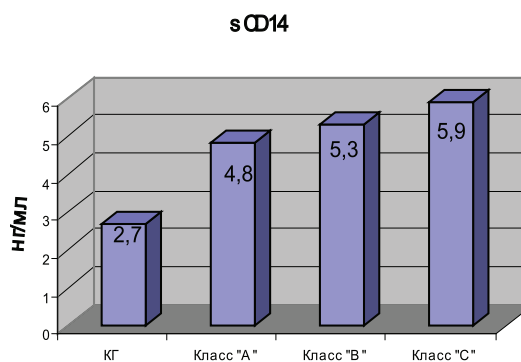
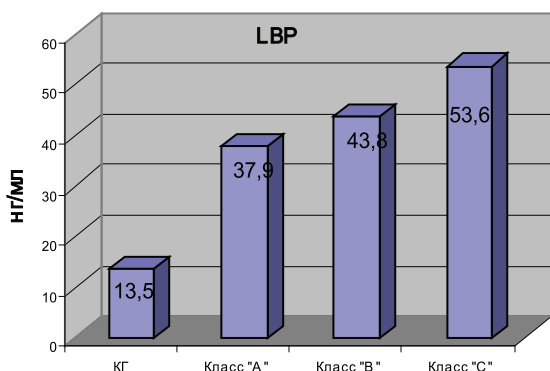
Полученные данные свидетельствуют о различиях средних значений обоих показателей при асците и ВРВП. Причем уровень LBP при наличии асцита статистически достоверно повышался по сравнению с подгруппой больных без асцита ($p = 0,02$), в отличие от sCD₁₄, где достоверность различий отсутствовала ($p = 0,6$).

Гиперспленизм не оказывал, по нашим данным, существенного влияния на концентрацию обоих изучаемых показателей. Даже после распределения больных на подгруппы с гиперспленизмом I ст. ($n = 42$) и II–III ст. ($n = 17$) статистически достоверных различий по LBP ($p = 0,3$) и sCD₁₄ ($p = 0,6$) не найдено.

С учетом того, что ВРВП у обследованных больных были обнаружены в 84%

случаев, уровень показателей неспецифического иммунитета был проанализирован в зависимости от степени варикоза. Для этого сравнению были подвергнуты подгруппы больных ЦП с ВРВП I–II и III–IV ст. Полученные данные свидетельствуют о росте средних значений и LBP, и sCD₁₄ при более высоких градациях флэбэктазий. Если в первой подгруппе уровень LBP составил 41,5 ± 1,3 нг/мл,

а sCD₁₄ 5,0 ± 0,1 нг/мл, то во второй соответственно – 46,1 ± 1,4 нг/мл ($p = 0,09$) и 5,6 ± 0,2 мкмоль/л ($p = 0,04$). Вероятно, рост концентраций обоих показателей при прогрессировании ПГ, о чем свидетельствует нарастание ВРВП, связан с увеличением сброса крови, содержащей микробные эндотоксины через порто-кавальные шунты, что стимулирует антиэндотоксиновый иммунитет.



LBP и sCD₁₄ у больных ЦП в зависимости от градации по Child-Pugh

Показатели LBP и sCD₁₄ в зависимости от проявлений портальной гипертензии

Показатель	Асцит		Гиперспленизм		ВРВП	
	+	–	+	–	I–II ст.	III–IV ст.
	(n = 53)	(n = 67)	(n = 59)	(n = 61)	(n = 59)	(n = 42)
LBP (нг/мл)	45,5 ± 1,4*	41,1 ± 1,4	43,7 ± 1,3	43,3 ± 1,4	41,5 ± 1,3	46,1 ± 1,4
sCD ₁₄ (нг/мл)	5,5 ± 0,2	5,3 ± 0,1	5,4 ± 0,2	5,3 ± 0,2	5,0 ± 0,1*	5,6 ± 0,2

Примечание. * – $p < 0,05$ в сравниваемых подгруппах.

Таким образом, проведенное исследование показало, что больные ЦП с выраженными проявлениями ПГ и печеночной недостаточности предрасположены к развитию синдрома избыточного бактериального роста и бактериальной транслокации, о чем косвенно свидетельствует реакция гуморального звена иммунной системы в виде повышенной выработки факторов неспецифического иммунитета – LBP и sCD₁₄.

В развитии эндотоксемии при печеночной патологии играют роль такие механизмы, как снижение дезинтоксикационной функции клеток Купфера [2, 3], развитие синдрома избыточного бактериального роста в тонкой кишке и нарушения микробиоценоза в толстой кишке, повышение проницаемости кишечной стенки для эндотоксинов и бактерий [1, 3, 10, 11]. При наличии ПГ нарастание эндотоксемии способствуют также нарушение перистальтики кишечника, венозный застой в стенке кишки, нарушение защитного слизистого барьера [3, 4, 10, 11]. В результате, эндотоксины

попадают в системный кровоток, запуская синдром эндотоксемии и реакцию антиэндотоксинового иммунного ответа. При этом обнаружение у больных ЦП повышенных концентраций в крови LBP и sCD₁₄ может быть использовано при оценке выраженности у них синдрома эндотоксемии и состояния антиэндотоксинового иммунитета.

Выводы

У больных ЦП выявлено 4–5-кратное увеличение LBP и 2–3-кратное увеличение sCD₁₄ по сравнению с нормой.

Антиэндотоксиновый иммунитет проявляет себя повышенной выработкой LBP и sCD₁₄ уже на начальных этапах ЦП, достигая еще больших значений в его терминальную стадию. Нарастание концентрации изучаемых показателей находилось в связи с активностью патологического процесса в печени, выраженностью печеночно-клеточной недостаточности и проявлений ПГ. Повышение значений LBP и sCD₁₄ может свидетельствовать, с одной стороны,

о выраженности синдрома эндотоксемии, с другой стороны – об активации антиэндотоксического иммунитета. Исследование LBP и sCD₁₄ при ЦП может быть использовано при прогнозировании течения заболевания и назначении патогенетической терапии.

Список литературы

1. Волчкова Е.В., Пак С.Г., Умбетова К.Т. Гуморальные и клеточные адаптационные механизмы при развитии интоксикационного синдрома у больных острыми вирусными гепатитами // Тер. архив. – 2004. – № 11. – С. 61–65.
2. Ивашкин В.Т. Основные понятия и положения фундаментальной иммунологии // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2008. – Т. 18. – № 4. – С. 4–13.
3. Ивашкин В.Т., Морозова М.А., Маевская М.В. Основные причины лихорадки у пациентов с нарушением функции печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2010. – Т.20. – № 1. – С. 21–29.
4. Левитан Б.Н., Умерова А.Р., Левитан Г.Б. Антитела к микробным липополисахаридам кишечной экосистемы при хронических гепатитах и циррозах печени // Вестн. С.-Петерб. гос. мед. академии им. И. И. Мечникова. – 2008. – № 3. – С. 135–138.
5. Яковлев М.Ю. Кишечный липополисахарид: системная эндотоксинемия – эндотоксиновая агрессия – SIR-синдром и полиорганная недостаточность, как звенья одной цепи // Бюллетень ВНЦ РАМН. – 2005. – № 1. – С. 15–18.
6. Alexander C., Rietschel E. T. Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity // J. Endotoxin. Res. – 2001. – № 7. – P. 167–202.
7. Medzhitov R., Janeway C. Innate immune recognition: mechanisms and pathways // Immunol. Rev. – 2000. – Vol. 173. – P. 89–97.
8. Garcia-Tsao G. Bacterial infection in cirrhosis: treatment and prophylaxis // J. Hepatol. – 2005. – Vol. 42. – P. 585–592.
9. Garcia-Tsao G. Spontaneous bacterial peritonitis: a historical perspective // J. Hepatol. – 2004. – Vol. 41. – P. 522–527.
10. Steib C.J, Hartmann A.C., Hesler C. et al. Intraperitoneal LPS amplifies portal hypertension in rat liver fibrosis // Lab Invest. – 2010. – V.90. – № 7. – P. 1024–1032.
11. Thieblemont N., Wright S.D. Transport of bacterial lipopolysaccharide to the golgiapparatus // J. Exp.Med. – 1999. – Vol. 190. – № 4. – P. 523–534.

References

1. Volchkova E.V. Pak S.G. Umbetova K.T. Gumorálne i kletocchnye adaptatsionnye mekhanizmy pri razvitii intoksikatsionnogo sindroma u bolnykh ostrymi virusnymi gepatitami. Ter. Arkhiv. 2004. no. 11. pp 61–65.
2. Ivashkin V.T. Osnovnye ponyatiya i polozheniya fundamentalnoy immunologii. Rossiiskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii. 2008. T. no. 4. pp. 4–13.
3. Ivashkin V.T., Morozova M.A., Maevskaya M.V. Osnovnye prichiny likhoradki u patsientov s narusheniem funktsii pecheni. Rossiiskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii. 2010. T. no. 20. pp. 21–29.
4. Levitan B.N., Umerova A.R., Levitan G.B. Antitela k mikrobnym lipopolisakharidam kishechnoy ekosistemy pri khronicheskikh gepatitakh i tsirozakh pecheni. Vestn. S.-Peterb. Gos.med. akademii im. I.I. Mechnikova. 2008. no. 3. pp. 135–138.
5. Yakovlev M.YU. Kishechnyy lipopolisakharid: sistemnaya endotoksinemiya- endotoksinovaya agressiya-SIR-sindrom i poliorgannaya nedostatochnost, kak zvenya odnoy tsepi. Byulleten VNTS RAMN. 2005. no. 1. pp 15–18
6. Alexander C., Rietschel E. T. Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity // J. Endotoxin.Res. 2001. no. 7. pp. 167–202.
7. Medzhitov R., Janeway C. Innate immune recognition: mechanisms and pathways // Immunol. Rev.2000. Vol. 173. pp. 89–97.
8. Garcia-Tsao G. Bacterial infection in cirrhosis: treatment and prophylaxis // J. Hepatol. 2005. Vol. 42. pp. 585–592.
9. Garcia-Tsao G. Spontaneous bacterial peritonitis: a historical perspective // J. Hepatol. 2004. Vol. 41. pp. 522–527.
10. Steib C.J, Hartmann A.C., Hesler C. et al. Intraperitoneal LPS amplifies portal hypertension in rat liver fibrosis // Lab Invest. 2010. Vol. 90. no. 7 pp. 1024–1032.
11. Thieblemont N., Wright S.D. Transport of bacterial lipopolysaccharide to the golgiapparatus // J. Exp.Med. 1999. Vol. 190. no. 4. pp. 523–534.

Рецензенты:

Астахин А.В., д.м.н., профессор, зам. глав. врача по клинико-экспертной работе, ГУЗ «Александро-Мариинская областная клиническая больница», г. Астрахань;

Попов Е.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой поликлинического дела и скорой медицинской помощи, ГБОУ «Астраханская государственная медицинская академия», г. Астрахань.

Работа поступила в редакцию 19.12.2013.