

ДИНАМИКА КОНЦЕНТРАЦИИ ЦИТОКИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ И УЛЬТРАФИЛЬТРАТЕ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПРОДЛЕННОЙ ЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ ТЕРАПИИ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

В данной статье представлены результаты изучения динамики концентрации провоспалительных (ФНО- α , ИЛ-1 β , 6, 8), противовоспалительных (ИЛ-4, 10 и 13) и регуляторных (ИФН- γ) цитокинов, при проведении продленной заместительной почечной терапии у пациентов с гепаторенальным синдромом после трансплантации печени.

Анализ результатов показал, что процент потерь цитокинов зависит не только от молекулярной массы. По результатам наших исследований элиминация ИЛ-4 и ИФН-гамма при продленной заместительной почечной терапии характеризуется высоким процентом «просеивания» – более 50%. Самый низкий процент «просеивания» через мембрану принадлежит ИЛ-6 и ИЛ-10 – менее 15%. Для ФНО-альфа, ИЛ-8, ИЛ-13 и ИЛ-1 β мембрана имеет средний процент «просеивания» от 20 до 40%.

Таким образом, проведение продленной заместительной почечной терапии у пациентов с гепаторенальным синдромом свидетельствуют о высокой эффективности данного метода для лечения пациентов в периоперационном периоде, а также для профилактики септических осложнений в том числе и за счет удаления части цитокинов.

Ключевые слова: цитокины, гепаторенальный синдром, продленная заместительная почечная терапия, трансплантация печени.

**T. V. Ryabzeva, V. V. Kirkovsky, E. L. Cedyelkina,
E. O. Santockiy, I. G. Kolesnikova**

DYNAMICS OF CYTOKINE CONCENTRATIONS IN PLASMA AND ULTRAFILTRATE DURING PROLONGED RENAL REPLACEMENT THERAPY

This article presents the results of studying the dynamics of the concentration pro-inflammatory (TNF- α , IL-1 β , 6, 8), anti-inflammatory (IL-4, 10 and 13) and regulatory (IFN- γ) cytokines during prolonged renal replacement therapy in patients hepatorenal syndrome with liver transplantation.

Analysis of the results showed that the percentage of losses cytokines depends not only on the molecular weight. According to the results of our studies elimination of IL-4 and IFN-gamma during prolonged renal replacement therapy is characterized by a high percentage of «screening» – more than 50%. The lowest percentage of «screening» belongs to the membrane IL-6 and IL-10 – less than 15%. For TNF-alpha, IL-8, IL-13 and IL-1 β membrane has an average percentage of «screening» of 20 to 40%.

Thus, carrying out extended renal replacement therapy in patients with hepatorenal syndrome indicate a high efficiency of this method for the treatment of patients in the perioperative period, as well as for the prevention of septic complications including due to the removal of the cytokines.

Key words: cytokines, hepatorenal syndrome, prolonged renal replacement therapy, liver transplantation.

Одним из грозных осложнений у больных с хронически-ми воспалительно-дистрофическими заболеваниями печени является гепаторенальный синдром [1, 2]. Современные методики лечения пациентов с гепаторенальным синдромом включают в себя проведение продленной заместительной почечной терапии (ПЗПТ). В результате ретроспективного анализа было показано, что 27 из 120 пациентов после пересадки донорской печени, понадобилось применение ПЗПТ в связи с развитием гепаторенального синдрома. Применяемые мембраны имеют 100% коэффициент просеивания для субстанций с молекулярным весом ниже 30 кДа. Поэтому данная методика, обеспечивает интенсивное удаление из организма части плазмы с растворенными в ней патогенетически значимыми субстанциями, в том числе «средних молекул» – продуктов промежуточного обмена белка [3] и цитокинов – важных медиаторов различных иммунологических реакций. Учитывая регуляторную роль цитокинов, многообразии их функций и невысокую молекулярную массу (в среднем около 20 кДа) актуальным является изучение особенностей элиминации про- и противовоспалительных цитокинов при ПЗПТ.

Цель работы – исследовать динамику концентрации провоспалительных (ФНО-α, ИЛ-1β, 6, 8), противовоспалительных (ИЛ-4, 10 и 13) и регуляторных (ИНФ-γ) цитокинов, при проведении продленной заместительной почечной терапии у пациентов с гепаторенальным синдромом после трансплантации печени.

Материалы и методы. В группу исследования включали пациентов с гепаторенальным синдромом, у которых отмечали: повышенное содержание мочевины и креатинина; гиперкалиемию; отсутствие выраженной гипопроотеинемии; отсутствие выраженной коагулопатии и снижение почасового диуреза (менее 600 мл в сутки). У всех пациентов этой группы в комплексную терапию включали методы продленной заместительной почечной терапии на системе multiFiltrate в режиме гемодиализа. Для проведения этой манипуляции сосудистый доступ обеспечивали с помощью двухпросветного катетера. Использовали фильтр типа AV600S (Fresenius Polysulfone). Область эффективной поверхности 1,4 м², коэффициент просеивания по альбумину 0,001. Скорость потока крови устанавливали в диапазоне 100–200 мл/мин. Средняя продолжительность манипуляции составляла 24 ± 3 ч. В качестве материала для исследований использовали плазму пациентов и ультрафильтрат из магистрали.

Определение концентрации цитокинов в плазме крови и ультрафильтрате проводили методом иммуноферментного анализа.

Коэффициент «просеивания» рассчитывался как процент цитокина, находящегося в ультрафильтрате от общей суммы концентраций цитокинов (в ультрафильтрате и в плазме крови). Коэффициент «просеивания» рассчитывали по формуле:

$$K_{np} = C_{уф} \cdot 100 / (C_{пл} + C_{уф}),$$

где K_{np} – коэффициент «просеивания», $C_{уф}$ – концентрация цитокина в ультрафильтрате (пг/мл), $C_{пл}$ – концентрация цитокина в плазме (пг/мл).

Статистическую обработку результатов исследования проводили в программах Microsoft Excel 2000, а также Statistica 8.0. Разницу считали статистически достоверной при $p < 0,05$. Все данные представлены медианой (25–75 квартили). Корреляционный анализ проводили, используя статистику Спирмена R.

Результаты и обсуждение. Результаты изучения динамики концентрации цитокинов в плазме крови пациентов при ПЗПТ представлены в таблице 1, концентрация цитокинов в ультрафильтрате – в таблице 2. Рассчитанные коэффициенты «просеивания» исследуемых цитокинов – в таблице 3.

Как показали наши исследования, ПЗПТ обеспечивает эффективный конвекционный массоперенос через мембрану как про-, так и противовоспалительных цитокинов. При этом прямая корреляционная зависимость концентрации цитокинов в ультрафильтрате от концентрации в плазме отмечалась только для провоспалительных цитокинов (ФНО-α, ИЛ-1β, 6, 8) и ИНФ-γ. Для противовоспалительных цитокинов корреляции между концентрацией цитокинов в плазме и ультрафильтрате не наблюдалось.

Таблица 1. Динамика концентрации цитокинов в плазме крови пациентов с гепаторенальным синдромом при продленной заместительной почечной терапии, пг/мл

Цитокин (диапазон нормальных значений, пг/мл)	Время проведения ПЗПТ		
	до начала ПЗПТ	через 12 часов	через 24 часа
ИЛ-1β (0–78)	4,21(2,45;4,32)	3,62(1,85;4,53)	2,68(1,52;12,14)
ИЛ-6 (0–70)	119,18 (35,78;327,08)	118,28 (26,09;527,18)	116,99 (9,10;285,74)
ИЛ-8 (0–34)	69,23 (9,01;274,32)	78,35 (7,63;317,22)	114,88 (12,27;192,81)
ФНО-альфа (0–12)	11,42 (9,44;18,20)	13,48 (6,24;20,25)	20,09 (2,40;35,70)
ИЛ-10 (4–10)	39,82 (14,24;76,29)	41,76 (24,26;91,26)	99,60 (22,77;214,24)
ИЛ-13	53,88 (23,73;113,94)	46,87 (33,83;93,24)	26,64 (24,59;43,03)
ИЛ-4	10,31 (2,74;13,55)	8,70 (5,80;10,15)	5,80 (4,35;8,70)
ИНФ-гамма	9,59 (4,05;33,84)	8,90 (5,85;53,09)	8,54 (7,07;21,46)

Таблица 2. Динамика концентрации цитокинов в ультрафильтрате пациентов с гепаторенальным синдромом при продленной заместительной почечной терапии, пг/мл

Цитокин	Время проведения ПЗПТ	
	через 12 часов	через 24 часа
ИЛ-1β	1,63 (1,37;2,10)	1,59 (1,01;1,80)
ИЛ-6	3,87 (2,79;38,18)	4,81 (2,38;18,67)
ИЛ-8	12,24 (7,14;95,95)	11,77 (5,49;51,78)
ФНО-альфа	5,14 (2,35;7,72)	8,00 (1,54;16,70)
ИЛ-10	5,00 (4,21;11,05)	9,04 (5,00;14,81)
ИЛ-13	11,62 (7,26;20,35)	5,81 (1,45;20,35)
ИЛ-4	105,41 (92,38;114,61)	83,19 (53,29;113,08)
ИНФ-гамма	10,61 (9,39;12,68)	11,71 (9,75;13,66)

Таблица 3. Процент «просеивания» и молекулярная масса исследуемых цитокинов, коэффициент корреляции между концентрацией цитокина в плазме и ультрафильтрате

Цитокин	Молек. масса, Да	Время проведения ПЗПТ	
		через 12 часов	через 24 часа
ФНО-альфа	26 000	34,28 (21,41;48,24)	33,31 (29,38;39,35)
ИЛ-1β	18 000	34,66 (27,31;43,84)	19,52 (12,54;50,00)
ИЛ-6	24 000	7,22 (3,69;21,09)	14,29 (3,97;29,40)
ИЛ-8	8800	40,28 (14,13;52,54)	30,91 (24,34;31,23)
ИЛ-10	21 000	10,00(5,71;16,04)	12,56 (5,27;33,24)
ИЛ-13	20 000	20,48 (11,25;29,04)	20,07 (5,16;38,74)
ИЛ-4	19 000	92,72 (89,12;95,17)	93,48 (80,05;95,57)
ИНФ-гамма	25 000	56,53(11,90;64,01)	57,86 (35,30;60,80)

Анализ динамики концентрации провоспалительных цитокинов показал отсутствие уменьшения концентрации цитокинов в плазме через 24 часа ПЗПТ по сравнению с пробой через 12 часов ПЗПТ. В некоторых случаях наблюдалось даже увеличение данного показателя. Так медиана концентрации ИЛ-8 через 12 часов составила 78,35 нг/мл, а через 24 часа – 114,88 нг/мл (таблица 1). Аналогичная ситуация наблюдалась с динамикой концентрации ФНО-α в плазме крови. Факт увеличения концентрации цитокинов в плазме при проведении ПЗПТ может являться следствием выхода данного цитокина из внутри- и вне-

□ Оригинальные научные публикации

клеточных секторов и стимуляцией эндотелия к синтезу данных провоспалительных цитокинов.

Однако достаточно высокий процент «просеивания» ИЛ-8 и ФНО- α (таблица 3) свидетельствует об эффективности ПЗПТ для их удаления. Данные цитокины являются важными с точки зрения риска развития синдрома системного воспалительного ответа. Исследования показали, что существует прямая зависимость между концентрацией этих цитокинов и смертностью пациентов с гепаторенальным синдромом в посттрансплантационном периоде [4, 5].

Увеличение концентрации в плазме при ПЗПТ отмечалось также и для ИЛ-10. Традиционно ИЛ-10 относится к числу противовоспалительных цитокинов (17–21 кДа). Он подавляет синтез цитокинов Т-клетками, снижает активность макрофагов, уменьшает продукцию воспалительных цитокинов. Данный цитокин ингибирует образование интерферонов, фактора некроза опухоли и ИЛ-6, ИЛ-1. Тем не менее, в последнее время появляются публикации, посвященные провоспалительным эффектам ИЛ-10. Этот цитокин стимулирует синтез IgE. ИЛ-10 участвует в гуморальном компоненте иммунного ответа, отвечая за алергизацию организма и антипаразитарную защиту. ИЛ-10 стимулирует пролиферацию и дифференцировку активированных В-клеток человека [6]. Коэффициент «просеивания» ИЛ-10 через мембрану в ультрафильтрат составил 10,00 (5,91;16,04)% через 12 часов и 12,56 (5,27;33,24)% через 24 часа ПЗПТ. Удаление ИЛ-10 из плазмы крови при ПЗПТ у пациентов с высоким риском развития инфекционных осложнений в периперационном периоде является благоприятным, так как избыток ИЛ-10 в организме ведет к снижению противoinфекционной защиты и развитию хронических инфекций [7].

Исследования показали, что изменений концентрации ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИФН- γ в плазме крови в процессе ПЗПТ не наблюдалось (таблица 1). Следует при этом отметить, достаточно высокие концентрации ИФН- γ в ультрафильтрате. Концентрация данного цитокина в ультрафильтрате при ПЗПТ через 12 часов составила 10,61 (9,39;12,68) пг/мл, через 24 часа – 11,71 (9,75;13,66) пг/мл. Процент «просеивания» ИФН-гамма через 12 часов – 56,53 (11,90;61,01)% и 57,86 (35,30;60,80)% через 24 часа ПЗПТ.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что процент потерь цитокинов при ПЗПТ не зависит от молекулярной массы. По результатам наших исследований элиминация ИЛ-4 и ИФН-гамма при ПЗПТ характеризуется высоким процентом «просеивания» – более 50% (таблица 3). Самый низкий процент «просеивания» через мембрану принадлежит ИЛ-6 и ИЛ-10 – менее 15%. Для ФНО-альфа, ИЛ-8, ИЛ-13 и ИЛ-1 β мембрана имеет средний процент «просеивания» от 20 до 40%.

Очевидно, что существуют определенные закономерности в элиминации цитокинов при проведении продленной заместительной почечной терапии, которые требуют более детального

изучения. Вероятнее всего, на проницаемость через мембрану цитокинов влияет третичная и четвертичная структура молекулы, а также процент гликозилирования и присутствие заряженных аминокислот на поверхности молекулы.

В заключении следует отметить, что цитокины являются важными медиаторами межклеточных коммуникаций при иммунном ответе, гемопоэзе и развитии воспаления. Они взаимосвязаны и образуют целую систему взаимодействующих элементов – цитокиновую сеть. При чрезмерной продукции цитокинов наблюдается развитие ряда патологических синдромов, таких как токсический шок, геморрагический некроз и синдром системного воспалительного ответа. Анализ полученных в ходе исследования результатов, свидетельствует о том, что продленная заместительная почечная терапия является эффективным средством для удаления цитокинов из циркуляции. Элиминация части цитокинов из кровеносного русла, приводит к перераспределению молекул в тканях и снижению концентрации цитокинов в местах локального воспаления. Таким образом, проведение продленной заместительной почечной терапии у пациентов с гепаторенальным синдромом свидетельствуют о высокой эффективности данного метода для лечения пациентов в периперационном периоде, а также для профилактики септических осложнений в том числе и за счет удаления части цитокинов, опосредующих развитие повреждений за счет чрезмерной активации воспалительной реакции организма в ответ на повреждение.

Литература

1. Пиманов, С. И. Гепаторенальный синдром // Гастроэнтерология. – 2005. – Т. 07, № 1.
2. Gines, P., Arroyo K. Hepatorenal syndrome // J. Am. Soc. Nephrol. – 1999. – Vol. 10. – P. 1833–1839.
3. Характер изменений белкового гомеостаза при проведении продленной заместительной почечной терапии у пациентов с гепаторенальным синдромом в периперационном периоде трансплантации печени / В. В. Кирковский, Г. Н. Бычко, А. В. Старостин, Е. Л. Седёлкина, Е. О. Сантоцкий // Медицинский журнал. – 2014. – № 3. – С. 80–81.
4. Zhaoli, Sun, Andrew S. K., Radaeva S. etc In vitro interleukin-6 treatment prevents mortality associated with fatty liver transplants in rats / Gastroenterology. – 2003. – Vol. 125, № 1. – P. 202–215.
5. Седёлкина, Е. Л., Старостин А. В., Кирковский В. В. Связь концентрации ФНО- α в плазме крови с выживаемостью пациентов в посттрансплантационном периоде. 9-ая Международная конференция «Актуальные аспекты экстракорпорального очищения крови в интенсивной терапии», сборник материалов. – М., 2014. – С. 26.
6. Lauw, F. N., Pajkrt D., Hack C. E. Proinflammatory effects of IL-10 during human endotoxemia. The J. of immunology, 2000, 165: 2783–2789.
7. Галактионов, В. Г. Иммунология. – М.: Академия, 2004. – 520 с.