

# ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ЗМІН МІКРОБІОЦЕНОЗУ КИШЕЧНИКУ З РІВНЕМ ФАКТОРА НЕКРОЗУ ПУХЛИН АЛЬФА І АНТИТІЛ ДО ЯДЕР БАКТЕРІАЛЬНИХ ЕНДОТОКСИНІВ У ХВОРИХ НА ЕСЕНЦІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ

Буковинський державний медичний університет, Чернівці

Сьогодні не існує консенсусу стосовно участі імунної системи та мікробіоти кишечника в розвитку артеріальної гіпертензії (АГ) [1; 2]. Однак взаємозв'язок параметрів системного імунітету та мікробного пейзажу переконливо доведено у дослідженнях J. E. King [3], котрий встановив, що зміни видового та кількісного складу мікрофлори кишечника порушують компенсаторні механізми імунного захисту макроорганізму, це своєю чергою сприяє поглибленню змін мікроекології кишечника. Проте не вирішеною залишається низка питань стосовно того, як зміни кишкової мікрофлори впливають на перебіг захворювань серцево-судинної системи, і навпаки, чи стає кишечник органом-мішенню при АГ, чи необхідно додатково корегувати

порушення кишкової мікрофлори тощо.

У відповідності до однієї з гіпотез, причиною підвищення рівня прозапальних цитокінів (інтерлейкіну 1 $\beta$ , фактора некрозу пухлин  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) тощо) у хворих на хронічну серцеву недостатність (ХСН) є бактеріальні ендотоксини, які проникають у кров через набряклу стінку кишечника і взаємодіють із CD14<sup>+</sup>-рецепторами імунокомпетентних клітин, запускаючи «спонтанний» синтез TNF- $\alpha$  та інших цитокінів [4; 5]. «Ентеральне» походження ендотоксинів у хворих на ХСН доведено тим, що їх концентрація у печінкових венах вірогідно вища, ніж у лівому шлуночку чи легневих венах [6]. Однак відсутні дані стосовно причин підвищення рівнів прозапальних цитокінів уже на ран-

ніх стадіях ХСН, коли венозний застій крові ще не виражений [7]. Невідомо, чи з'являються вони у хворих на АГ ще до появи ХСН.

**Мета** роботи — встановити зміни вмісту TNF- $\alpha$  й антитіл класу IgG до ядер бактеріальних ендотоксинів у хворих на АГ залежно від тяжкості захворювання та ступенів дисбактеріозу порожнини дистального відділу товстої кишки.

## Матеріали та методи дослідження

У дослідженні взяло участь 104 хворих на есенціальну АГ (ЕАГ) I–III стадій тяжкості (ВООЗ, 1999), у котрих через 7 днів після відміни антигіпертензивних препаратів середнє значення офісного артеріального тиску (АТ) систолічного та діастолічного (САТ, ДАТ),

вимірюючого відповідно до вимог Європейських товариств гіпертензії та кардіології (ESH, ESC), перевищувало 140/90 мм рт. ст. [8]. Вибір пацієнтів та розподіл за групами відповідно до ураження органів-мішеней і появи ускладнень АГ здійснювався згідно з класифікацією ВООЗ (1999) та критеріями ESH і ESC [8]. Серед пацієнтів 50 (48,1 %) жінок і 54 (51,9 %) чоловіків, середній вік — (53,2±8,7) року, тривалість захворювання від 2 до 30 років (у середньому (16,85±7,50) року). Контрольну групу утворили 20 практично здорових осіб відповідного віку та статі.

Дослідження порожнинної мікрофлори дистального відділу товстої кишки проводили методом мікробіологічних кількісних та якісних досліджень наважки випорожнень обстежуваних за стандартним протоколом [3, 9].

Плазмовий рівень антитіл класу IgG до ядер бактеріальних ендотоксинів 4 грамнегативних видів бактерій визначали у плазмі венозної крові хворих на ЕАГ (n=34), імуноферментним методом (ІФА, ELISA) на аналізаторі «Униплан-М» (Росія) за допомогою набору EndoCab (Test Kit, "Hy-Cult biotech", Нідерланди). Вміст TNF- $\alpha$  досліджували у плазмі крові методом ІФА на аналізаторі «Униплан-М» (Росія) за допомогою наборів реактивів "ProCon TNF- $\alpha$ " (ТОВ «Протеиновый контур», Росія).

Статистичну обробку проводили за допомогою прикладних програм MS<sup>®</sup> Excel<sup>®</sup> 2003<sup>™</sup> Primer of Biostatistics<sup>®</sup> 6.05 та Statistica<sup>®</sup> 7.0 (StatSoft Inc., США). Вірогідність отриманих даних для незалежних вибірок розраховували із застосуванням t-критерію Стьюдента. Зв'язок показників обчислювали за допомогою біваріантної рангової кореляції (r) за Спірменом, параметричної — за Пірсоном. Різницю вважали вірогідною при p<0,05.

## Результати дослідження та їх обговорення

Ступені тяжкості дисбактеріозу з урахуванням видового складу та популяційного рівня мікрофлори порожнини товстої кишки у хворих на ЕАГ залежно від уражень органів-мішеней наведено у табл. 1. У хворих на ЕАГ I невірогідно переважав дисбактеріоз I-II ступеня, у хворих на ЕАГ II — дисбактеріоз III ступеня (p<0,001), а у хворих на ЕАГ III діагностовано переважно дисбактеріоз III-IV ступенів. Таким чином, у хворих на ЕАГ II і III органом-мішенню у 4,3 рази частіше (p<0,001) стає кишечник. Тяжкість дисбактеріозу вірогідно корелювала із тяжкістю ЕАГ II і III (r $\geq$ 0,43; p<0,05).

Плазмовий вміст TNF- $\alpha$  у хворих на ЕАГ залежно від

ураження органів-мішеней наведено у табл. 2. Рівень TNF- $\alpha$  вірогідно перевищував показник контролю в усіх досліджуваних групах: у хворих на ЕАГ I — на 20,6 %, на ЕАГ II — на 39,0 %, на ЕАГ III, ХСН 0-I ФК — у 2,0 рази, на ЕАГ III, ХСН I-II ФК — у 2,5 рази (p<0,001). Водночас концентрація TNF- $\alpha$  була максимальною в пацієнтів із ЕАГ III стадії без та з ХСН, перевищуючи таку у хворих на ЕАГ I та II стадій на 36,8 % (p<sub>1</sub><0,001) і 19,3 % (p<sub>2</sub><0,01) і 47,9 і 33,4 % (p<sub>1-2</sub><0,001) відповідно, зі збереженням вірогідної міжгрупової різниці на 17,5 % (p<sub>3</sub><0,05).

Плазмовий рівень антитіл класу IgG до ядер бактеріальних ендотоксинів залежно від тяжкості ЕАГ і кишкового дисбактеріозу наведено у табл. 2 і 3. Спостерігали невірогідний

Таблиця 1

Ступені тяжкості кишкового дисбактеріозу у хворих на ЕАГ залежно від ураження органів-мішеней, абс. (%), n=104

Ступені тяжкості дисбактеріозу	Контроль <sup>1</sup> , n=20	ЕАГ I, n=14	ЕАГ II, n=42	ЕАГ III, n=48	Всього, n=104
Нормофлора	10 (50,0)	0	0	0	0
I ступінь	8 (40,0)	4 (28,6)	1 (2,4)	1 (2,1)	6 (5,8)
II ступінь	2 (10,0)	7 (50,0)	2 (4,8)	3 (6,25)	12 (11,5)
III ступінь	0	3 (21,4)	31 (73,8)	28 (58,3)	62 (59,6)
IV ступінь	0	0	8 (19,0)	16 (33,3)	24 (23,1)
Всього	20 (100,0)	14 (13,5)	42 (40,4)	48 (46,1)	104 (100,0)

Примітки. <sup>1</sup> — підрахунок (%) проводили окремо для здорових (n=20) та хворих на ЕАГ (n=104) відповідно; n (%) — кількість (відсоток) спостережень.

Таблиця 2

Вміст фактора некрозу пухлин  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) антитіл класу IgG до ядер бактеріальних ендотоксинів у плазмі крові залежно від тяжкості ЕАГ, абс. (%)

Показники	Контроль <sup>1</sup> , n=20	ЕАГ I, n=14	ЕАГ II, n=24	ЕАГ III, ХСН 0-I ФК, n=22	ЕАГ III, ХСН II ФК, n=28
TNF- $\alpha$ , пг/мл	44,16±3,98	56,70±5,08 P<0,05	72,43±4,99 P<0,001; P <sub>1</sub> <0,01	89,71±5,60 P-P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,01	108,79±8,54 P-P <sub>2</sub> <0,001 P <sub>3</sub> <0,05
IgG, ЗМО/мл	2,31±0,21	3,72±0,65	4,30±0,42 P<0,05	5,50±1,07 P<0,05	6,21±1,58 P-P <sub>1</sub> <0,05

Примітка. P — вірогідність різниці показників відносно контролю; P<sub>1</sub> — вірогідність різниці показників відносно таких у пацієнтів із ЕАГ I; P<sub>2</sub> — вірогідність різниці показників відносно таких у пацієнтів із ЕАГ II; P<sub>3</sub> — вірогідність різниці показників відносно таких у пацієнтів із ЕАГ III ХСН 0-I ФК; n — кількість спостережень.

Таблиця 3

Плазмовий рівень антитіл класу IgG до ядер бактеріальних ендотоксинів грамнегативних видів бактерій у хворих на ЕАГ залежно від ступенів тяжкості кишкового дисбактеріозу (дисбіозу), n=34

Ступінь тяжкості	Плазмовий рівень антитіл, ЗМО/мл
I ступінь, n=3	2,73±0,19
II ступінь, n=9	4,03±0,55
III ступінь, n=18	5,30±0,94 P<0,05
IV ступінь, n=4	7,26±1,15 P<0,03 P <sub>1</sub> <0,05

Примітка. P — вірогідність різниць показників відносно I ступеня кишкового дисбактеріозу; P<sub>1</sub> — вірогідність різниць показників відносно II ступеня.

кореляційний зв'язок вмісту IgG із тяжкістю ЕАГ (r=0,31, p>0,05) та невірогідне зростання його концентрації у крові хворих залежно від уражень органів-мішеней, при цьому у пацієнтів із ЕАГ II і III стадій вміст IgG до ядер ендотоксинів перевищував дані контрольної групи у 1,9 і 2,4 разу (p<0,05) без вірогідної міжгрупової різниці (див. табл. 2). У хворих на ЕАГ III ХСН II рівень IgG перевищував показник у контролі у 2,7 разу, у пацієнтів із ЕАГ I — у 1,7 разу (p-p<sub>1</sub><0,05). Також виявили вірогідну кореляційну залежність вмісту у плазмі IgG зі ступенями тяжкості кишкового дисбактеріозу (r=0,90, p<0,001): у хворих на ЕАГ із III і IV ступенями дисбактеріозу (див. табл. 3) концентрація IgG перевищувала показник в осіб із I ступенем у 1,9 разу (p<0,05) і 2,7 разу (p<0,03) відповідно із вірогідно більшим рівнем IgG у хворих із IV ступенем дисбактеріозу, ніж у пацієнтів із II ступенем, у 1,8 разу (p<0,05). Встановили наявність вірогідного взаємозв'язку вмісту IgG із популяційним рівнем грамнегативних бактерій:

патогенних ентеротоксигенних ешерихій *E. coli* Hly+ (r=0,59, p=0,001) та умовнопатогенних ентеробактерій *E. aerogenes* (r=0,55, p=0,002) із пограничною вірогідністю і слабкої сили зв'язку до популяційного рівня *P. niger* (r=0,36, p=0,053). Також виявили вірогідний взаємозв'язок плазмового рівня специфічних IgG із офісним САТ і ДАТ у жінок (r=0,60, p=0,014 і r=0,65, p=0,007 відповідно) і рівнем TNF-α (r=0,47, p=0,041) незалежно від статі.

Отримані нами дані підтверджують гіпотезу [4–6] щодо впливу бактеріальних ендотоксинів на синтез про- та протизапальних цитокінів (IL-1β, TNF-α, TGF-β) у хворих на ХСН. А. Gurlek et al. [7] виявили у підвищених концентраціях TNF-α у плазмі крові вже на ранніх стадіях ХСН, ще до появи венозного застою, що також узгоджується із отриманими нами результатами і може бути наслідком розвитку абдомінального ішемічного синдрому та дисбіозу кишечника у хворих на ЕАГ II і, особливо, III стадій. Це засвідчують отримані нами дані: у хворих на ЕАГ, починаючи з II стадії, органом-мішенню стає також і кишечник, що супроводжується субклінічною ендотоксинемією і, своєю чергою, обтяжує клінічний перебіг захворювання.

### Висновки

Ураження органів-мішеней у хворих на ЕАГ супроводжується вірогідно частішою у 4,3 разу появою дисбактеріозу III–IV ступенів та зростанням TNF-α у плазмі у 1,3–1,6 разу, особливо при появі ХСН — у 1,9 разу, ніж у пацієнтів із ЕАГ I. Рівень антитіл класу IgG до ядер бактеріальних ендотоксинів у плазмі крові залежить від ступенів тяжкості кишкового дисбіозу, появи ХСН, корелює із рівнем TNF-α у плазмі та АТ у жінок і не залежить від тяжкості ЕАГ.

Перспективи дослідження полягають у вивченні ульт-

тразвукових змін мезентеріальних судин у хворих на ЕАГ залежно від тяжкості дисбіозу.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Шаврин А. П. Исследование связи маркеров воспаления с уровнем артериального давления / А. П. Шаврин, Б. В. Головской // Цитокины и воспаление. — 2006. — Т. 5, № 4. — С. 10–12.
2. Ischemia of the intestinal mucosa during cardiopulmonary bypass / N. Tsunooka, Y. Hamada, H. Imagawa [et al.] // Artif. Organs. — 2003. — Vol. 6 (2). — P. 149–151.
3. King J. E. Digestive health / J. E. King. — Rochester, Minnesota, USA: Mayo Clinic, 2000. — 194 p.
4. Elevated soluble CD14 receptors and altered cytokines in chronic heart failure / S. D. Anker, K. Egerer, H.-D. Volk [et al.] // Am. J. Cardiol. — 1997. — Vol. 79. — P. 1426–1430.
5. Endotoxin and immune activation in heart failure: a prospective cohort study / J. Neibauer, H.-D. Volk, M. Kemp [et al.] // Lancet. — 1999. — Vol. 53. — P. 1838–1842.
6. Endotoxemia in congestive heart failure: highest levels in hepatic veins suggestive of intestinal bacterial and/or endotoxin translocation / T. Peschel, S. D. Anker, K. Ziegenbalg [et al.] // Eur. J. Heart Failure. — 2000. — Vol. 2 (Suppl. 2). — P. 22/10452.
7. Tumor necrosis factor-alpha in diastolic failure / A. Gurlek, M. Kiliccap, R. Dandachi [et al.] // Eur. J. Heart Failure. — 2000. — Vol. 2 (Suppl. 2). — P. 28/10381.
8. Guidelines for the Management of Arterial Hypertension 2007. The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC) / ESC and ESH Committee // J. Hypertension. — 2007. — Vol. 25. — P. 1105–1187.
9. Бондаренко В. М. Методы определения микробиологии кишечника / В. М. Бондаренко, Е. М. Горская // Медицинские аспекты микробной экологии. — 1992. — № 6. — С. 23–26.