УДК 616.34-002:616.155.194:616-097

БОЙКО Т.Й., ЄГОРОВА С.Ю., СОРОЧАН О.В.
ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпропетровськ

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ІМУНОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНІ ЗАПАЛЬНІ ЗАХВОРЮВАННЯ КИШЕЧНИКА З АНЕМІЧНИМ СИНДРОМОМ

Резюме. *Обстежено 69 хворих на хронічні запальні захворювання кишечника з анемічним синдромом. Групу порівняння становили хворі на хронічні захворювання кишечника без анемії. Встановлено, що розвиток анемії асоціюється з експресією прозапальних цитокінів ІЛ-6 та особливо ФНП-α. Виявлено пригнічення поглинальної активності нейтрофільних гранулоцитів, що сприяє хронізації запального процесу. Посиленню деструктивних процесів сприяє підвищення продукції супероксидного аніону нейтрофільними гранулоцитами і моноцитами.*

Ключові слова: *хронічні запальні захворювання кишечника, анемія, цитокіни, фагоцитоз.*

Хронічні запальні захворювання кишечника (ХЗЗК) залишаються вагомою медико-соціальною проблемою, на що вказує зростання захворюваності, безперервний рецидивуючий перебіг з прогресуючим порушенням структури і функцій слизової оболонки кишечника, зниження якості життя та інвалідизація осіб молодого віку [1].

Анемія зумовлює ускладнення перебігу ХЗЗК, розвиток вторинної імунної недостатності, зниження працездатності [2, 3]. Через гіпоксію відбувається перерозподіл крові з мезентеріальних судин, що призводить до зниження кровопостачання кишечника, що додатково погіршує процеси всмоктування і репарації слизової оболонки. Встановлено, що анемічний синдром у хворих на ХЗЗК є маркером тяжкості захворювання і предиктором резистентності його до лікування [4]. Існує декілька причин розвитку анемії у хворих на ХЗЗК: кишкові кровотечі, порушення всмоктування, аліментарний дефіцит заліза та фолієвої кислоти через рафіновану дієту, дисбактеріоз [3, 5].

Найчастіше анемія при ХЗЗК є комбінацією залізодефіцитної анемії (ЗДА) та анемії хронічного захворювання (АХЗ) [4, 5]. Залізодефіцитна анемія характеризується зменшенням вмісту заліза в крові, кістковому мозку та депо; крім того, порушується синтез гему, міоглобіну, білків, що містять залізо, та залізовмісних тканинних ферментів. Основними причинами залізодефіцитних анемій при ХЗЗК найчастіше бувають порушення всмоктування та мікрокровотечі [6].

Дослідження останніх років показали участь заліза у забезпеченні таких важливих процесів, як проліферація та диференціювання клітин, клітинний та гуморальний імунітет, біосинтетичні процеси, метаболізм фізіологічно активних сполук та енергетичний обмін. Отже, наслідком дефіциту заліза в організмі є не тільки гематологічна симптоматика, а і розлад функцій усіх клітин, особливо у високоаеробних тканинах. Як відомо, мікробіцидні механізми макрофагів і нейтрофілів є кисеньзалежними, оскільки саме молекули кисню є джерелом для утворення вільних радикалів і антимікробних сполук. Таким чином, при ЗДА страждає фагоцитоз як ефекторна ланка системи природженої резистентності, а також реакції цитотоксичності, реалізація яких неможлива без участі імунокомпетентних клітин [7].

Анемія хронічних захворювань за поширеністю перебуває після ЗДА. Патогенетичні механізми анемії хронічних захворювань включають гіперпродукцію прозапальних цитокінів (фактор некрозу пухлини α (ФНП-α), інтерферон γ, інтерлейкіни (ІЛ) — ІЛ-1, ІЛ-6), що порушують обмін заліза, впливають на гемопоез, пригнічують процес диференціювання клітин-попередників еритроїдної ланки та гальмують синтез еритропоетину нирками. Однією з безпосередніх причин зниження гемоглобіну при АХЗ є перерозподіл запасів заліза в організмі у зв'язку з хронічною гіпоферитинемією. Прозапальні цитокіни зменшують доступність заліза, накопиченого ретикулоендотеліальною системою. Активація системи

© Бойко Т.Й., Єгорова С.Ю., Сорочан О.В., 2013
© «Гастроентерологія», 2013
© Заславський О.Ю., 2013

мононуклеарних фагоцитів призводить до ретенції (депонування) заліза в макрофагах. Крім того, в умовах тривалого антигенного навантаження посилюється руйнування еритроцитів макрофагами селезінки, оскільки перші мають надзвичайно активну адсорбуючу мембранну поверхню [8].

Мета роботи: встановити особливості змін імунологічних показників у хворих на хронічні запальні захворювання кишечника з анемією.

Завдання дослідження:

1. Визначити рівень ФНП-α та ІЛ-6 у сироватці крові хворих на ХЗЗК.

2. Вивчити стан фагоцитарної ланки імунітету хворих на ХЗЗК.

Матеріал і методи дослідження

Проведено обстеження 69 хворих на хронічні запальні захворювання кишечника з анемічним синдромом, в тому числі 54 хворих на неспецифічний виразковий коліт (НВК) і 15 — на хворобу Крона (ХК). В групу з анемією включали хворих, у яких рівень гемоглобіну (Hb) був нижче 120 г/л: 43 пацієнта з анемією I ступеня (Hb від 119 до 90 г/л) 19 — II ступеня (Hb у межах 89–70 г/л), та 7 — з анемією III ступеня (Hb нижче 70 г/л). Групу порівняння становили 14 хворих на хронічні запальні захворювання кишечника без анемії. Контрольну групу становили 15 практично здорових осіб.

Фактор некрозу пухлини α та інтерлейкін-6 у сироватці крові визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу за допомогою діагностичних тест-систем виробництва ЗАТ «Вектор-Бест» (Росія) відповідно до інструкції виробника. Виміри проводились на імуноферментному аналізаторі Stat Fax 303 Plus (США).

Фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів (Нф) та моноцитів (Мо) периферичної крові визначали за їхньою здатністю до поглинання *Staphylococcus aureus* (підраховували фагоцитарний індекс (ФІ) — кількість фагоцитуючих клітин, фагоцитарне число (ФЧ) — середнє число бактерій у фагоцитуючій клітині й індекс перетравлювання (ІП) — відсоток перетравлених мікробних клітин із числа поглинутих). Функціональну активність фагоцитів оцінювали в спонтанному НСТ-тесті за реакцією відновлення нітросинього тетразолію. Враховували відсоток НСТ-позитивних клітин і цитохімічний показник (ЦХП), що відображає активність продукції супероксидного аніону [9].

Статистична обробка результатів досліджень здійснювалася методами варіаційної статистики, реалізованими стандартним пакетом прикладних програм Statistica for Windows 6.0.

Результати дослідження

Рівень прозапальних цитокінів в усіх групах хворих був вірогідно підвищеним порівняно з контролем (табл. 1). У групі хворих на ХЗЗК без анемії сироваткові концентрації ФНП-α та ІЛ-6 були вірогідно підвищеними до (53,59 ± 14,92) пг/мл і (20,38 ± 4,56) пг/мл відповідно, проти (2,20 ± ± 0,81) пг/мл і (9,70 ± 2,24) пг/мл у групі контролю ($p < 0,05$), що можна розглядати як показник інтенсивності запалення, залучення до патологічного процесу імунної системи.

У хворих на ХЗЗК з анемією зміни рівня прозапальних цитокінів мали аналогічний характер, проте ступінь вираженості їх був значно вищим. Рівень ФНП-α становив (90,19 ± 8,98) пг/мл, що в 1,7 раза вище порівняно з хворими на ХЗЗК без анемії ($p < 0,05$). Рівень ІЛ-6 був підвищеним до (28,86 ± 5,12) пг/мл.

Таблиця 1 — Вміст цитокінів у сироватці крові і показники фагоцитарної активності хворих на ХЗЗК (M ± m)

Показник	Хворі на ХЗЗК з анемією (n = 69)	Група порівняння (n = 14)	Контроль (n = 15)
ФНП-α, пг/мл	90,19 ± 8,98***•	53,59 ± 14,92*	2,20 ± 0,81
ІЛ-6, пг/мл	28,86 ± 5,12*	20,38 ± 4,56*	9,70 ± 2,24
НСТ-активні Нф, %	18,25 ± 1,85*	19,50 ± 3,47*	12,03 ± 0,74
ЦХП Нф, ум.од.	0,42 ± 0,06	0,40 ± 0,11	0,31 ± 0,02
НСТ-активні Мо, %	16,38 ± 1,54**	13,30 ± 1,99*	6,91 ± 0,52
ЦХП Мо, ум.од.	0,32 ± 0,05	0,26 ± 0,07	0,23 ± 0,02
ФІ Нф, %	50,01 ± 2,45***	51,02 ± 5,79**	76,71 ± 1,94
ФЧ Нф, ум.од.	4,61 ± 0,29*	5,6 ± 0,8	6,33 ± 0,37
ІП Нф, %	31,75 ± 1,57***•	43,33 ± 4,29**	65,16 ± 1,33
ФІ Мо, %	43,06 ± 2,27**	34,0 ± 4,39	32,21 ± 1,32
ФЧ Мо, ум.од.	3,76 ± 0,19**	3,22 ± 0,09**	5,12 ± 0,24
ІП Мо, %	26,84 ± 1,47	30,67 ± 2,89	27,11 ± 1,53

Примітки: * — $p < 0,05$ порівняно з контролем; ** — $p < 0,01$ порівняно з контролем; *** — $p < 0,001$ порівняно з контролем; • — $p < 0,05$ з групою порівняння.

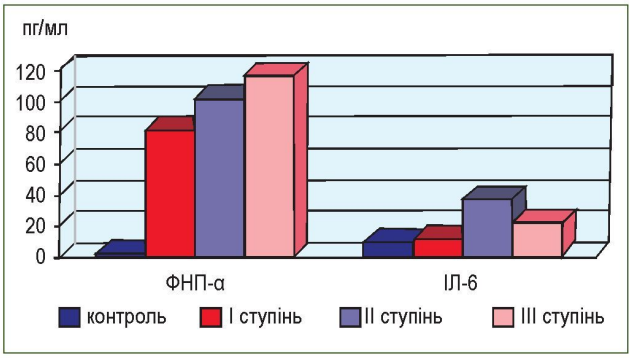

Рисунок 1 — Рівень цитокінів у сироватці крові хворих на ХЗЗК залежно від ступеня тяжкості анемії

У хворих на ХЗЗК з анемічним синдромом встановлено негативні кореляційні зв'язки між рівнем ФНП-α та рівнем гемоглобіну ($r = -0,45$; $p = 0,01$), середнім об'ємом еритроциту ($r = -0,42$; $p = 0,05$), гематокритом ($r = -0,37$; $p = 0,02$), середнім вмістом гемоглобіну в еритроциті ($r = -0,45$; $p = 0,01$).

Аналіз середніх показників у тесті відновлення нітросинього тетразолію показав, що рівень формазанпозитивних клітин був вірогідно підвищений у хворих на ХЗЗК з анемією та без неї. Напруження кисневозалежного метаболізму фагоцитів може бути однією з причин порушення цілісності слизових оболонок кишечника та відігравати роль у розвитку процесів автоагресії.

У хворих на ХЗЗК з анемією та без неї спостерігалось зменшення кількості активно фагоцитуючих нейтрофілів в 1,5 раза і зниження здатності перетравлювати поглинутий мікроорганізм в 2,1 раза у групі хворих на ХЗЗК з анемією та в 1,5 раза у групі порівняння. У хворих з анемією було виявлено вірогідне зниження індексу поглинання (ФЧ) порівняно з контролем і індексу перетравлювання порівняно з групою без анемії ($p < 0,05$), що свідчить про зниження антибактеріальної активності нейтрофілів при розвитку анемії. Встановлено прямий кореляційний зв'язок між індексом поглинання нейтрофілів і вмістом заліза ($r = 0,45$; $p = 0,01$) та рівнем гемоглобіну ($r = 0,39$; $p = 0,02$), що свідчить про пригнічення поглинальної активності нейтрофілів при анемії.

При дослідженні фагоцитарної активності моноцитів периферичної крові встановлено вірогідне підвищення фагоцитарного індексу в 1,3 раза до $(43,06 \pm 2,27)$ % у групі хворих на ХЗЗК з анемією проти $(32,2 \pm 1,3)$ % у групі контролю ($p < 0,01$). Враховуючи, що моноцити виконують у плазмі крові ті ж самі функції, що і їх похідні макрофаги у тканинах, активація поглинальної активності і респіраторного вибуху у 47,8 % хворих свідчить про активацію макрофагальної системи.

Рівень прозапальних цитокінів у сироватці крові хворих на ХЗЗК залежно від ступеня тяжкості анемії представлено на рис. 1.

Аналіз наведених даних виявив, що вміст ФНП-α підвищувався паралельно з поглибленням анемії. Так, у хворих із III ступенем анемії спостерігалось його підвищення в 1,4 раза порівняно з I ступенем.

Рівень ІЛ-6 у хворих із I ступенем анемії не мав вірогідних відмінностей від значень контрольної групи, проте у хворих із II та III ступенем анемії вміст указаного цитокіну був вірогідно підвищеним порівняно з контролем і з I ступенем анемії ($p < 0,05$). Таким чином, отримані дані свідчать про цитокінопосередкований характер анемії у хворих на ХЗЗК.

Висновки

1. Розвиток анемії у хворих на ХЗЗК асоціюється з експресією прозапальних цитокінів ІЛ-6 та особливо ФНП-α, що підтверджується негативними кореляційними зв'язками між рівнем ФНП-α та рівнем гемоглобіну ($r = -0,45$; $p = 0,01$), середнім об'ємом еритроциту ($r = -0,42$; $p = 0,05$), гематокритом ($r = -0,37$; $p = 0,02$), середнім вмістом гемоглобіну в еритроциті ($r = -0,45$; $p = 0,01$).

2. Прямий кореляційний зв'язок між індексом поглинання нейтрофілів і вмістом заліза ($r = 0,45$; $p = 0,01$) та рівнем гемоглобіну ($r = 0,39$; $p = 0,02$) свідчить про пригнічення поглинальної активності нейтрофілів при анемії, що сприяє хронізації запального процесу. Посиленню деструктивних процесів сприяє підвищення продукції супероксидного аніону нейтрофільними гранулоцитами ($p < 0,05$) і моноцитами ($p < 0,01$).

Список літератури

1. Дорофеев А.Э. Заболевания кишечника / А.Э. Дорофеев, Т.Д. Звягинцева, Н.В. Харченко. — Горлівка: Ліхтар, 2010. — 532 с.

2. Weiss G. Anemia of Chronic Disease / G. Weiss, L.T. Goodnough // New. Eng. J. Med. — 2005. — Vol. 352, № 10. — P. 1011-1023.

3. Степанов Ю.М. Анемії у гастроентерологічних хворих / Ю.М. Степанов, С.В. Косинська // Гастроентерологія: Міжвідомчий збірник. — Дніпропетровськ, 2006. — Вип. 37. — С. 361-367.

4. Півторак К.В. Імунний статус при загостренні неспецифічного виразкового коліту та хвороби Крона, залежність від наявності анемічного синдрому / К.В. Півторак // Biomedical and Biosocial Anthropology. — 2008. — № 11. — С. 156-160.

5. Клинико-патогенетические варианты анемии у больных с воспалительными заболеваниями кишечника / В.Н. Дроздов, А.А. Лищинская, А.И. Парфенов [и др.] // Терапевтический архив. — 2012. — Т. 84, № 2. — С. 36-41.

6. Iron, anaemia, and inflammatory bowel diseases / C. Gasche, M.C.E. Lomer, I. Cavill [et al.] // Gut. — 2004. — V. 53, № 8. — P. 1190-1197.

7. Казмірчук В.Є. Клінічна імунологія і алергологія / В.Є. Казмірчук, Л.В. Ковальчук. — Вінниця: Нова книга, 2006 — 528 с.

8. Sabery N. Use of Serologic Markers as a Screening Tool in Inflammatory Bowel Disease Compared with Elevated Erythrocyte Sedimentation Rate and Anemia / N. Sabery, D. Bass // Pediatrics. — 2007. — Vol. 119, № 1. — P. 193-199.

9. Унифицированные иммунологические методы обследования больных на стационарном и амбулаторном этапах лечения: Методические рекомендации / Киевский НИИ фтизиатрии и пульмонологии им. Ф.Г. Яновского. — К., 1988. — 18 с.

Отримано 20.05.13

Бойко Т.И., Егорова С.Ю., Сорочан Е.В.
ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», г. Днепропетровск

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА С АНЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Резюме. Обследовано 69 больных хроническими воспалительными заболеваниями кишечника с анемическим синдромом. Группу сравнения составили больные с хроническими заболеваниями кишечника без анемии. Установлено, что развитие анемии ассоциируется с экспрессией провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и особенно ФНО-α. Выявлено угнетение поглотительной активности нейтрофильных гранулоцитов, которое способствует хронизации воспалительного процесса. Усилению деструктивных процессов способствует повышение продукции супероксидного аниона нейтрофильными гранулоцитами и моноцитами.

Ключевые слова: хронические воспалительные заболевания кишечника, анемия, цитокины, фагоцитоз.

Boyko T.Y., Yegorova S.Yu., Sorochan O.V.
State Institution «Institute of Gastroenterology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Dnipropetrovsk, Ukraine

PECULIARITIES OF CHANGES OF IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH CHRONIC INFLAMMATORY BOWEL DISEASE WITH ANEMIC SYNDROME

Summary. The study involved 69 patients with chronic inflammatory bowel disease with anemic syndrome. The comparison group consisted of patients with bowel pathology without anemia. It is found that the development of anemia is associated with the expression of proinflammatory cytokine IL-6 and especially TNF-α. There was revealed inhibition of the absorbing activity of neutrophilic granulocytes, which contributes to chronization of inflammatory process. Excessive production of superoxide anion by neutrophilic granulocytes and monocytes promotes intensification of destructive processes.

Key words: chronic inflammatory bowel diseases, anemia, cytokines, phagocytosis.