

УДК 616.36 – 004 – 06: 616.12 – 008.331.1

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УРОВНЯ ЭНДОТОКСЕМИИ У БОЛЬНЫХ ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ С ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Микуров А.А., Гарбузенко Д.В.

ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия», Челябинск,  
e-mail: mikurovaa74@mail.ru

Проведён сравнительный анализ уровня эндотоксемии у больных ( $n = 90$ ) циррозом печени с портальной гипертензией. Качественные его показатели оценивали посредством небактериальной экспресс-диагностики методом активированных частиц (МАЧ), количественные – при помощи кинетического хромогенного теста, являющегося вариантом лимулюс амёбоцитного лизатного теста (ЛАЛ-теста). Результаты исследования показали, что максимальная концентрация эндотоксина в крови была у больных с острым кровотечением из варикозно расширенных вен пищевода. Напротив, его минимальные значения зафиксированы у пациентов, не имевших этого осложнения.

**Ключевые слова:** цирроз печени, портальная гипертензия, эндотоксемия

## THE COMPARATIVE ANALYSIS OF LEVEL ENDOTOXEMIA AT PATIENTS OF THE CIRRHOSIS OF THE LIVER WITH THE PORTAL HYPERTENSIA

Mikurov A.A., Garbuzenko D.V.

Chelyabinsk state medical academy Chelyabinsk, Chelyabinsk, e-mail: mikurovaa74@mail.ru

Qualitative and quantitative correlation analysis of the level of endotoximi of patients ( $n = 90$ ) with the cirrhosis of liver with hepatoportal hypertension has recently been carried out. The following tests were applied: Method of activated particles (MAP) – Endotox spp – for the qualitative analysis of the level of endotoximi, Limulus amoebocytic lysate (LAL) test – for the estimation of the quantity of endotoxin in blood. The results of the analysis have shown that the maximum concentration of endotoxin in blood was diagnosed in patients with the acute bleeding from variceal veins of the oesophagus. On the contrary, its minimal value was fixed in patients not having this complication.

**Keywords:** liver cirrhosis, portal hypertension, endotoxemia

Портальная гипертензия (ПГ) возникает главным образом вследствие цирроза печени (ЦП) и характеризуется рядом тяжёлых осложнений, среди которых наиболее частым и опасным являются кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода (ВРВП). Патологические механизмы свойственных ЦП нарушений кровообращения многообразны и сложны. В их основе лежит увеличение печёночного сосудистого сопротивления с последующим развитием гипердинамического циркуляторного статуса, что, несмотря на формирование естественных портосистемных шунтов, способствует прогрессированию ПГ [2].

В настоящее время установлена прямая зависимость между уровнем эндотоксемии и расстройствами гемодинамики при ЦП. Выявлено, что бактеремия наиболее часто встречается у больных с кровотечением из ВРВП. Кроме того, она снижает эффективность консервативной или эндоскопической терапии кровотечений и является одним из факторов риска их рецидива [1].

P. Vallance и S. Moncada [8] в 1991 году выдвинули оригинальную теорию патогенеза гемодинамических нарушений при

ЦП. Они предположили, что развившаяся в результате перемещения бактерий через слизистую оболочку кишечника эндотоксемия прямо или опосредованно через цитокиновый каскад стимулирует индуцибельную синтазу оксида азота эндотелия сосудов, увеличивая его продукцию. Кроме того, на поверхностной мембране макрофагов, содержащихся в лимфатических узлах брыжейки, выявлены многочисленные рецепторы для цитокинов, гормонов, компонентов комплемента и Fc-фрагментов иммуноглобулинов, а также большое количество антигенов, наиболее характерным из которых считается антиген CD14. Он функционирует как рецептор для липополисахаридов клеточной стенки грамотрицательных бактерий. Связывание антигеном CD14 комплекса бактериальных липополисахаридов вызывает немедленную активацию макрофагов и включение синтеза провоспалительных цитокинов (интерлейкины-1, 6; туморнекротизирующий фактор- $\alpha$ ) [3]. Последние, так же как и эндотоксин, попадают в портальный кровоток. В дальнейшем либо через сеть естественных портакавалльных шунтов, либо минуя клетки Купфера, вслед-

ствие снижения активности ретикулоэндотелиальной системы печени, они поступают в системную циркуляцию.

**Цель исследования:** провести качественный и количественный корреляционный анализ уровня эндотоксемии у больных ЦП с риском развития кровотечений из ВРВП.

### Материалы и методы исследования

Было обследовано 90 больных ЦП с клинически выраженной ПГ. Всем пациентам проводилось исследование функциональных проб печени, показателей гемостазиограммы, двухмерное ультразвуковое сканирование органов брюшной полости, доплерография сосудов портальной системы, по показаниям – лапароскопия. Посредством фиброэзофагогастроскопии оценивали состояние слизистой оболочки пищевода и желудка. При этом степень ВРВП определяли в соответствии с международной классификацией, предложенной Японским обществом по изучению ПГ (Japanese Research Society for Portal Hypertension) [4]: F0 – варикоз отсутствует; F1 – небольшой, прямой варикоз (1 ст.); F2 – извитой варикоз, занимающий менее 1/3 просвета пищевода (2 ст.); F3 – большой, чёткообразный, занимающий более 1/3 просвета пищевода (3 ст.).

Все больные были разделены на три группы. Первую группу составили пациенты, не имевшие кровотечений из ВРВП – 25 человек. Вторую – перенёвшие данное осложнение в анамнезе – 20 человек. Третью – поступившие в экстренном порядке с клиникой острого кровотечения из ВРВП – 45 человек.

Качественный анализ выраженности эндотоксемии проводили посредством небактериальной экспресс-диагностики методом активированных частиц (МАЧ) тестовыми наборами «МАЧ-Endotox spp.», разработанными в НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН и НПФ «Рохат». Принцип метода основан на иммобилизации на поверхности полимерных химических микросфер с размером частиц 0,62–0,68 мкм моноклональных антител субкласса JqG 3 и JqG 2a, специфичных к общему эндотоксину грамотрицательных бактерий, выделенных из *E. coli*, 0:111 B4 J5, что позволяет выявить в течение 10 минут в сыворотке крови больных общий эндотоксин грамотрицательных бактерий.

Исследуемый материал (кровь человека) набирается в стерильную центрифужную пробирку без антикоагулянтов и помещается в термостат на 30–40 минут при  $t = 37^{\circ}\text{C}$  и центрифугируется в течение 15 минут при 3000 об./мин. Полученную сыворотку используют для анализа в течение

2-х часов после взятия крови. Допускается её замораживание и хранение. Учет результатов реакции производится по степени активирования частиц (САЧ), начиная с диагностического титра 1:8. Она определяется по балльной системе от 1 до 4. Для анализа результатов исследования был использован коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Количественный анализ уровня эндотоксемии проводили при помощи кинетического хромогенного теста, являющегося вариантом лимулус амебоцитного лизатного теста (ЛАЛ-теста), в основе которого лежит способность лизата амебоцитов мечехвоста специфически реагировать с эндотоксинами (липополисахаридами) грамотрицательных бактерий. Он был внедрён после случайно выявленного у рачка *Limulus polyphemus* диссеминированного внутрисосудистого свертывания после инъекции грамотрицательных бактерий. Последующие исследования показали, что свертывание гемолимфы обуславливает один компонент бактерии — эндотоксин. Необходимые для активации процессов свертывания факторы можно найти в гранулах, которые имеются в специализированных кровяных клетках *Limulus polyphemus* – амебоцитах. С применением лизата этих клеток был разработан простой тест свертывания для измерения количества эндотоксина. Его принцип состоит в том, что присутствие эндотоксина вызывает каскадную реакцию в клетках, в которой участвуют 3 протеазы. Данная реакция активирует эзим, расщепляющий клеточный протеин на 3 полипептидные цепочки, 2 из которых отвечают за гелирование гемолимфы. Этот процесс определенным образом аналогичен человеческому каскаду свертывания. Нами был применён специальный ЛАЛ-реактив с хромогенным субстратом, при этом измерялась интенсивность окрашивания реакционной смеси. Интерпретация результатов проводилась на микропланшетах с использованием спектрофотометра Bio-Tek ELx808. Проверка гипотезы о равенстве средних групп исследования проводилась на основании критерия Манна-Уитни.

### Результаты исследования и их обсуждение

Качественный анализ показал, что максимальную концентрацию эндотоксина в крови (4 САЧ) имели исключительно больные, поступившие с острым кровотечением из ВРВП – 29 человек. Минимальную (1 САЧ) – 20 пациентов, не имевших кровотечений из ВРВП и 5 перенёвших его ранее (табл. 1).

Таблица 1

Качественная оценка уровня эндотоксемии у больных циррозом печени

		Уровень эндотоксемии			
		1 САЧ	2 САЧ	3 САЧ	4 САЧ
Наличие кровотечения из ВРВП	Кровотечения нет	$n = 20$	$n = 5$	0	0
	Кровотечение в анамнезе	$n = 5$	$n = 10$	$n = 5$	0
	Острое кровотечение	0	$n = 5$	$n = 11$	$n = 29$

Коэффициент Спирмена ( $R = 0,86; p < 0,05; n = 90$ )

Максимальное количество эндотоксина в крови было обнаружено у больных с острым кровотечением из ВРВП: от 7,82 до 56,73 нг/мл, минимальное – при их отсутствии: от 0 до 0,91 нг/мл. У пациентов, имевших кровотечение из ВРВП в анам-

незе, его значения составили от 1,0 до 3,33 нг/мл (табл. 2).

Полученная корреляционная зависимость между уровнем эндотоксемии и кровотечением из ВРВП у больных ЦП позволяет предположить, что бактериаль-

ная транслокация является пусковым механизмом, способствующим развитию этого осложнения. Действительно, известные факторы риска (увеличение градиента печёночного венозного давления, нарушение функции печени, большой размер варикозов, изменения слизистой оболочки пищевода и желудка) не полностью объясняют причину возникновения кровотечений из ВРВП. Например, ранее было показано, что

ежедневное значительное повышение портального давления как при приеме пищи [6], так и физической нагрузке [5] в большинстве случаев к их развитию не приводят. Напротив, эндотоксемия, играющая важную роль в генезе гипердинамического циркуляторного статуса, ухудшения функции печени и нарушения гемостаза у больных ЦП, может быть критическим фактором риска кровотечений из ВРВП [7].

Таблица 2

Количество эндотоксина в крови у больных циррозом печени ( $M \pm m$ )

	Кровотечения нет ( $n = 25$ )	Кровотечение в анамнезе ( $n = 20$ )	Острое кровотечение ( $n = 45$ )
Количество эндотоксина, нг/мл	0,47 ± 0,09	1,85 ± 0,14	32,10 ± 3,03

Достоверность различий между группами исследования  $p < 0,05$  по U-критерию Манна-Уитни.

**Выводы.** Результаты исследования показали прямую корреляционную зависимость уровня эндотоксемии с риском развития кровотечений из ВРВП у больных ЦП. Очевидно, что в комплексную профилактику этого тяжёлого осложнения целесообразно включать препараты, корригирующие эндотоксемию, в частности, действие которых направлено на нормализацию кишечной микрофлоры и препятствующих её транслокации.

#### Список литературы

1. Гарбузенко Д.В. Роль микрофлоры кишечника в развитии осложнений портальной гипертензии при циррозе печени // Клинич. медицина. – 2007. – № 8. – С. 15–19.
2. Гарбузенко Д.В. Патфизиологические механизмы и новые направления терапии портальной гипертензии при циррозе печени // Клинич. перспективы гастроэнтерол., гепатол. – 2010. – № 6. – С. 11–20.
3. Лукина Е.А. Система мононуклеарных фагоцитов и биологические эффекты провоспалительных цитокинов //

Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол, колопроктол. – 1998. – Т. VIII, № 5. – С. 7–13.

4. Idezuki Y., Japanese Research Society for Portal Hypertension // World J. Surg. – 1995. – Vol. 19, № 3. – P. 420–422.

5. Qamar M.I., Read A.E. Effects of exercise on mesenteric blood flow in man // Gut. – 1987. – Vol. 28, № 5. – P. 583–587.

6. Qamar M.I., Read A.E. Effects of carbohydrate, fat, protein and water on mesenteric blood flow in man // Scand. J. Gastroenterol. – 1988. – Vol. 23, № 1. – P. 26–30.

7. Thalheimer U., Triantos C.K., Samonakis D.N. et al. Infection, coagulation, and variceal bleeding in cirrhosis // Gut. – 2005. – Vol. 54, № 4. – P. 556–563.

8. Vallance P., Moncada S. Hypothesis: induction of nitric oxide synthase in the vasculature underlies the hyperdynamic circulation of cirrhosis // Lancet. – 1991. – Vol. 337. – P. 776–778.

#### Рецензент –

Бордуновский В.Н., д.м.н., профессор, зав. кафедрой хирургических болезней и урологии ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия», г. Челябинск.