

УДК 616.36-002.35.14:578.16.32
© Єлізарова Т.О., 2011

КОНЦЕНТРАЦІЯ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ (IL-4, IL-10) У СИРОВАТЦІ КРОВІ ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНИЙ СТЕАТОГЕПАТИТ Єлізарова Т.О.

Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика (Київ)

Згідно з результатами сучасних клініко-епідеміологічних досліджень, неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) є вельми поширеною хронічною хворобою печінки, яка за ступенем розповсюдженості в світі поступається лише хронічним вірусним ураженням гепатобіліарної системи (ГБС), викликаних вірусами гепатитів В (HBV) та С (HCV) [2, 6, 20]. За даними сучасної медичної статистики, поширеність НАСГ в загальній популяції дорослого населення в різних країнах світу вагається від 3 до 58% [7, 22]. У країнах Західної Європи НАСГ діагностують близько у 11% пацієнтів, яким проводять біопсію печінки у зв'язку з підвищеним рівнем амінотрансфераз сироватки крові [20, 21]. В той же час реальна поширеність НАСГ може бути ще вище за рахунок осіб без клінічної маніфестації патології печінки [7, 22]. В теперішній час встановлена суттєва захворюваність на НАСГ в Україні, причому має місце тенденція до подальшого збільшення кількості хворих з даною хронічною патологією печінки, внаслідок чого вона набуває не лише медичне, але й також соціальне значення [4, 15, 16].

Предикторами несприятливого перебігу НАСГ вважають вік старше 45 років, наявність у хворого цукрового діабету 2-го типу, патологічного ожиріння, жіноча стать, а також генетичну обумовленість хронічної патології печінки (несприятливий рідний анамнез) [2, 11, 23]. Підвищення частоти виникнення НАСГ серед населення, розвиток тяжких ускладнень при прогресуванні хвороби, що приводять до ранньої інвалідизації та навіть летальних наслідків, робить дану проблему дуже актуальною для клінічної практики. Відомо, що в чверті пацієнтів с прогресуючим перебігом НАСГ протягом 9 років розвивається фіброз, в кожного п'ятого – цироз печінки [17]. При більш тривалих строках спостереження прогресування фіброзу виявляється в 50% хворих з НАСГ, причому нерідко цей процес тривало перебігає без клінічної маніфестації [17, 22]. Більшість сучасних досліджень присвячені вивченню біохімічних маркерів та проблемам порушень метаболічного гомеостазу у хворих на НАСГ [11, 14, 21]. В той же час імунна складова патогенезу НАСГ залишається недостатньо вивченою, зокрема практично відсутні роботи щодо аналізу цитокінового профілю крові (ЦПК) хворих на стеатогепатит.

Враховуючи значну актуальність проблеми НАСГ для сучасної медицини, детальне вивчення імуннопатогенезу цієї патології представляє не лише науковий інтерес, але має і конкретне практичне використання. В той же час конкрет-

ні імунологічні порушення при даній хронічній патології печінки залишаються недостатньо відомими. Виходячи з сучасних положень клінічної імунології, можна вважати, що саме цитокіновий профіль крові (ЦПК) має суттєве значення для загальної характеристики імуннопатогенезу більшості хронічних хвороб, в тому числі гастроентерологічного профілю [3, 5, 18, 19]. При цьому найбільше значення приділяється в теперішній час тривалості збереження підвищеного рівня прозапальних цитокінів (ЦК) та їх співвідношення з протизапальними [19]. Тому ми вважали доцільним проаналізувати можливі зсуви з боку ЦПК хворих на НАСГ, зокрема рівень протизапальних ЦК при даній патології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, темами: робота виконувалась відповідно з основним планом науково-дослідних робіт (НДР) Національної медичної академії післядипломної освіти ім. Шупика (Київ) і являє собою фрагмент теми НДР «Іммунопатогенез неалкогольного стеатогепатиту, імюнокорекція та імунореабілітація хворих» (№ держреєстрації 0110U005265).

Метою роботи було вивчення концентрації протизапальних ЦК (IL-4, IL-10) у сироватці крові хворих на НАСГ при проведенні загальноприйнятого лікування.

Матеріали і методи дослідження. Було обстежено 42 хворих на НАСГ, з них 24 чоловіків (57,1%) та 18 жінок (42,9%) віком від 30 до 55 років. Діагноз НАСГ був встановлений у відповідності до стандартизованих протоколів діагностики та лікування хвороб органів травлення (Наказ МОЗ України № 271 від 13.06.2005 р.) [10] на підставі даних анамнезу, клінічного та інструментального (УЗД органів черевної порожнини) обстеження, з обов'язковим урахуванням даних загальноприйнятих біохімічних показників, які характеризують функціональний стан печінки. Більшість обстежених до початку лікування в клінічному плані мали помірне загострення хронічного патологічного процесу у печінці. Усім хворим, що знаходилися під наглядом, було проведено аналіз вмісту у сироватці крові маркерів вірусних гепатитів (ВГ) - ВГВ, ВГС та ВГД за допомогою методу імюноферментного аналізу (ІФА); при позитивних результатах ІФА на наявність маркерів ВГ, ці хворі були виключені з подальшого дослідження. З дослідження також виключалися хворі з цукровим діабетом, підвищеними цифрами артеріального тиску (більш 140/90 мм рт. ст.) та при наявності в анамнезі зловживання алкогольними напоями.

Обстежені хворі з діагнозом НАСГ отримув-

вали загальноприйняте лікування, яке включало відповідну дієту [1], препарати есенціальних фосфоліпідів (есенціале форте Н), гепатопротектори рослинного походження (сілібор, карсил), а також антиоксиданти (аскорбінова кислота, токоферолу ацетат) [6, 7].

Загальноприйняті лабораторні методи дослідження включали клінічний аналіз крові і сечі, вивчення вмісту глюкози у крові. Для оцінки функціонального стану печінки вивчалися біохімічні показники з використанням уніфікованих методів [13], які включали визначення у крові рівня загального білірубину і його фракцій (прямої та непрямої), активності сироваткових амінотрансфераз – АЛАТ і АСАТ; вмісту холестерину, β -ліпопротеїдів та альбуміну у сироватці крові, активності екскреторних ферментів – лужної фосфатази (ЛФ) та гамаглутамілтранс-пептидази (ГГТП); показника тимолової проби.

Для реалізації мети роботи обстеженим проводили визначення рівня ЦК у крові методом ІФА на лабораторному обладнанні виробництва фірми Sanofi Diagnostics Pasteur (Франція), в тому числі на імуноферментному аналізаторі PR 2100. Концентрацію протизапальних ЦК (ІЛ-4, ІЛ-10) у сироватці крові визначали за допомогою сертифікованих в Україні тест-систем виробництва ТОВ „Протеиновый контур” (ProCon) (РФ – СПб) [12].

Статистичну обробку одержаних результатів досліджень здійснювали на персональному комп'ютері Intel Pentium III 800 за допомогою дисперсійного аналізу з використанням пакетів ліцензійних програм Microsoft Office 2007, Microsoft Excel Stadia 6.1 / prof і Statistica, з урахуванням особливостей використання статистичних методів у біології та медицині [9].

Результати дослідження та їх обговорення. На момент початку лікування більшість обстежених хворих на НАСГ скаржилися на загальну слабкість, нездужання, підвищену стомлюваність, зниження апетиту та працездатності, низький емоційний тонус. Із суб'єктивної симптоматики, яка характерна для помірного загострення хронічної патології гепатобіліарної системи, відмічалася наявність тяжкості у правому підребер'ї, досить часто (майже у третини хворих), скаржилися також на гіркоту у роті. Пацієнти, що були під наглядом, відмічали також нестійкість настрою, підвищену емоційну лабільність, нерідко неадекватну емоційну реакцію на оточуюче у вигляді експлозивності, що обтяжу-

вало їхні взаємовідносини із членами сім'ї та колегами по роботі. При об'єктивному обстеженні у пацієнтів з НАСГ відмічалася наявність субіктеричності або блакитного відтінку склер (ознака Високовича), помірна гепатомегалія (печінка виступала на 3–4 см з-під реберного краю, була підвищеної щільності), нерідко чутливість печінкового краю при пальпації.

За даними ультразвукового дослідження органів черевної порожнини встановлена наявність збільшення розмірів печінки, підвищення або нерівномірності ехогенності паренхіми, розмитий або стертий судинний малюнок, а також нечітка візуалізація діафрагмального контуру печінки.

При біохімічному дослідженні, що характеризує функціональний стан печінки, було встановлено, що вміст у сироватці крові фракції білірубину (зв'язаного) білірубину був у більшості випадків помірно підвищеним ($P < 0,05$) та складав від 8,3 до 8,9 мкмоль/л, активність АЛАТ перевищувала верхню межу норми в 1,9–2,3 рази та АСАТ – в 1,7–2,0 рази, значення показника тимолової проби також були помірно підвищеними та складали від 6,4 од. до 8,8 од.; у більшості пацієнтів, які були під наглядом, була помірно збільшена активність екскреторних ферментів – ЛФ та ГГТП ($P < 0,05$) та в низці випадків відмічалася підвищення рівня холестерину та β -ліпопротеїдів у сироватці крові.

При проведенні імунологічного дослідження до початку проведення лікування було встановлено, що у хворих на НАСГ відзначалися різноспрямовані зсуви з боку концентрації протизапальних ЦК. Так, у 36 обстежених (85,7%) рівень ІЛ-4 у сироватці крові був помірно підвищеним, у 4 осіб (9,5%) – знаходився в межах норми та у 2 осіб (4,8%) пацієнтів – помірно зниженим. В цілому концентрація ІЛ-4 у крові обстежених хворих на НАСГ до початку проведення лікування була збільшена у середньому в 1,31 рази стосовно значень норми і складала при цьому $(61,9 \pm 1,2)$ пг/мл. Вміст протизапального ЦК ІЛ-10 у сироватці крові хворих на НАСГ також змінювався різноспрямовано, а саме був збільшеним у 28 осіб (66,7%), в межах норми – у 8 обстежених (19,0%) та знижувався у 6 осіб (14,3%). В середньому концентрація цитокіну ІЛ-10 у сироватці крові хворих на НАСГ до початку проведення лікування була збільшена у 1,26 рази відносно значень норми ($P < 0,05$) (таблиця).

Таблиця. Концентрація протизапальних цитокінів (ІЛ-4, ІЛ-10) у сироватці крові обстежених хворих на НАСГ ($M \pm m$)

Показники	Норма	Концентрація протизапальних ЦК у крові хворих на НАСГ		P_2
		до початку лікування	після лікування	
ІЛ-4, пг/мл	$47,2 \pm 1,6$	$61,9 \pm 1,1$ $P_1 < 0,001$	$54,3 \pm 1,1$ $P_1 < 0,001$	$< 0,05$
ІЛ-10, пг/мл	$1,28 \pm 0,05$	$1,61 \pm 0,07$ $P_1 < 0,05$	$1,49 \pm 0,07$ $P_1 < 0,05$	$> 0,05$

Примітка: P_1 - вірогідність різниці між показниками до та після завершення лікування; стовпчик P_2 - вірогідність різниці з нормою.

При вивченні концентрації протизапальних ЦК на момент завершення лікування із застосуванням загальноприйнятих препаратів було встановлено, що вивчені показники мали тенденцію до покращення, але повної нормалізації не відбувалося (рисунок).

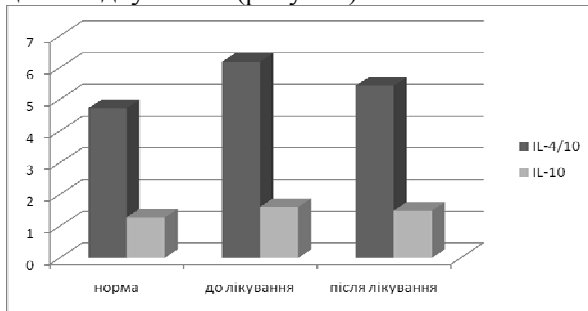


Рисунок. Динаміка рівня протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10 у сироватці крові хворих на НАСГ.

Так, рівень ІЛ-4 знижувався у порівнянні з висхідним в середньому в 1,14 рази, але залишався вище норми в середньому в 1,15 рази ($P < 0,05$); концентрація ІЛ-10 зменшувалася у порівнянні з першопочатковим значенням в середньому в 1,1 рази, але залишалася вище норми в середньому в 1,16 рази ($P < 0,05$). Таким чином, отримані дані дозволяють вважати, що проведення загальноприйнятого лікування не забезпечує нормалізації концентрації прозапальних ЦК (ІЛ-4, ІЛ-10) у сироватці крові обстежених хворих на НАСГ.

Відомо, що тривале збільшення вмісту ІЛ-4 у сироватці крові хворих при хронічній патології є несприятливою прогностичною ознакою в плані подальшого перебігу захворювання [5, 8]. Вважають, що гіперпродукція ІЛ-4 приводить до пригнічення функціонального стану макрофагально/моноцитарних клітинних елементів, що негативно впливає на продукцію ЦК та їхніх біологічно активних речовин, сприяє зниженню активності Th1-лімфоцитів, та, навпаки, підвищенню функціональної діяльності Th2-лімфоцитів [5, 8]. Виходячи з цього, можна вважати, що збереження у більшості хворих на НАСГ на момент виписки зі стаціонару підвищеної концентрації прозапальних ЦК (ІЛ-4, ІЛ-10) обумовлює необхідність подальшого детального дослідження особливостей імунопатогенезу даної патології та розробки раціональних підходів до імунореабілітації таких хворих, в тому числі спрямованої на нормалізацію ЦПК.

Висновки:

1. Хворі на НАСГ до лікування скаржилися на наявність тяжкості у правому підребер'ї, гіркоту у роті, а також на загальну слабкість, нездужання, підвищену стомлюваність, зниження апетиту та працездатності, низький емоційний тонус, нестійкість настрою, підвищену емоційну лабільність, експлозивність. При об'єктивному обстеженні у пацієнтів з НАСГ відмічалася наявність субіктеричності або блакитного відтінку склер (ознака Високовича), помірна гепатомега-

лія (печінка виступала на 3–4 см з-під реберного краю, була підвищеною щільності), нерідко чутливість печінкового краю при пальпації.

2. За даними ультразвукового дослідження органів черевної порожнини встановлена наявність збільшення розмірів печінки, підвищення або нерівномірність ехогенності паренхіми, розмитий або стертий судинний малюнок, а також нечітка візуалізація діафрагмального контуру печінки.

3. При біохімічному дослідженні, що характеризує функціональний стан печінки, було встановлено, що вміст у сироватці крові фракції прямого (зв'язаного) білірубіну був у більшості випадків помірно підвищеним ($P < 0,05$) та складав від 8,3 до 8,9 мкмоль/л, активність АЛАТ перевищувала верхню межу норми в 1,9–2,3 рази та АсАТ – в 1,7–2,0 рази, значення показника тимолової проби також були помірно підвищеними та складали від 6,4 од. до 8,8 од.; у більшості пацієнтів, які були під наглядом, була помірно збільшена активність екскреторних ферментів – ЛФ та ГГТП ($P < 0,05$) та в низці випадків відмічалася підвищення рівня холестерину та β -ліпопротеїдів у сироватці крові.

4. При імунологічному дослідженні хворих на НАСГ до початку лікування було виявлено різноспрямовані зсуви з боку концентрації протизапальних ЦК. Так, у 36 обстежених (85,7%) рівень ІЛ-4 у сироватці крові був помірно підвищеним, у 4 осіб (9,5%) – знаходився в межах норми та у 2 осіб (4,8%) пацієнтів – помірно зниженим. В цілому концентрація ІЛ-4 у крові обстежених до початку проведення лікування була збільшена у середньому в 1,31 рази.

5. До початку лікування вміст ІЛ-10 у сироватці крові хворих на НАСГ був збільшеним у 28 осіб (66,7%), в межах норми – у 8 обстежених (19,0%) та знижувався у 6 осіб (14,3%). В середньому концентрація ІЛ-10 була підвищеною у 1,26 разів відносно норми та досягала $(1,61 \pm 0,07)$ пг/мл.

6. При проведенні загальноприйнятого лікування відмічається тенденція до зниження вихідно підвищеної концентрації прозапальних ЦК (ІЛ-4, ІЛ-10) у сироватці крові хворих на НАСГ. Однак при цьому на момент завершення лікування концентрації прозапальних ЦК залишалися вірогідно вище норми: так, вміст ІЛ-4 був в 1,15 рази перевищував норму ($P < 0,05$) та ІЛ-10 – в 1,16 рази ($P < 0,05$). Це свідчить про збереження порушень з боку ЦПК у хворих на НАСГ при застосуванні лише загальноприйнятих лікарських засобів.

7. Виходячи з отриманих результатів дослідження, в подальшому можна вважати доцільним проведення аналізу ефективності включення до комплексу лікувальних засобів у хворих на НАСГ сучасних імуноактивних препаратів, які можуть сприяти відновленню показників імунологічного гомеостазу, зокрема нормалізації концентрації протизапальних ЦК у сироватці крові.

8. Перспективою наших подальших досліджень є також продовження вивчення особливо-

стей імунних порушень у хворих на НАСГ, зокрема характеру продукції ЦК в тестах *in vitro*.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Анохіна Г.А. Дієтична та медикаментозна терапія неалкогольного стеатогепатиту / Г.А.Анохіна, В.В.Харченко, С.В.Бойко // Здоров'я України. – 2009. – № 6/1. – С. 55-56.
2. Буеверов А.О. Неалкогольная жировая болезнь печени и неалкогольный стеатогепатит / А.О.Буеверов // Врач. – 2009. – № 7. – С. 33-37.
3. Возианов А.Ф. Цитокины. Биологические и противоопухолевые свойства / А.Ф. Возианов, А.К. Бутенко, К.П. Зак. – Киев: Наукова думка, 1998. – 313 с.
4. Гриневич В.Б. Неалкогольная жировая болезнь печени: клинико-социальные аспекты проблемы / В.Б. Гриневич, Е.И. Сас // Российские медицинские вести. – 2010. – Т. 15, № 1. – С. 54-62.
5. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г.Н. Дранник. – Киев: Полиграф Плюс. – [3-е изд.], 2006. – 482 с.
6. Ивашкин В.Т. Неалкогольный стеатогепатит / В.Т. Ивашкин, Ю.О. Шупельникова // Болезни органов пищеварения. – 2003. – № 2. – С. 41 – 45.
7. Ильин В.Ф. Болезни печени. Рациональные методы лечения. / В.Ф.Ильин. – СПб.: Невский проспект; Вектор. – 2007. – 128 с.
8. Клиническая иммунология и аллергология / под ред. Г. Лолора, Т. Фишера и Д. Адельмана: пер. с англ. – М.: Практика, 2000. – 806 с.
9. Сергиенко В.И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В.И. Сергиенко, И.Б. Бондарева. – М.: Геотар-Медицина, 2000. – 162 с.
10. Стандартизовані протоколи діагностики та лікування хвороб органів травлення: методичні рекомендації / Н.В. Харченко, Г.А. Анохіна, Н.Д. Опанасюк [та інш.]. – Київ, 2005. – 56 с.
11. Степанов Ю.М. Современные взгляды на патогенез, диагностику и лечение неалкогольного стеатогепатита / Ю.М. Степанов, Ф.Ю. Филиппова // Сучасна гастроентерологія. – 2008. – №3. – С. 18-24.
12. Тест системы ProCon IL4 (ИЛ-4), IL10 (ИЛ-10) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.protc.spb.ru/russian.html>.
13. Унифицированные биохимические методы обследования больных: метод. рекомендации / Под ред. Л.Л. Громашевской. – Киев: МЗ Украины, 1990. – 64 с.
14. Фадеенко Г.Д. Стеатогепатит. Биохимические маркеры и проблемы диагностики / Г.Д. Фадеенко, Н.А. Кравченко // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – № 1. – С. 8 – 13.
15. Філіппов Ю.О. Епідеміологічні особливості хвороб органів травлення та гастроентерологічна служба в Україні: здобутки, проблеми та шляхи їх вирішення / Ю.О. Філіппов, І.Ю. Скирда // Гастроентерологія: міжвід. зб. – Дніпропетровськ, 2005. – Вип. 36. – С. 9 - 17.
16. Філіппов Ю.О. Основні показники гастроентерологічної захворюваності в Україні / Ю.О. Філіппов, І.Ю. Скирда, Л.М. Петречук // Гастроентерологія: міжвід. зб. – Дніпропетровськ, 2006. – Вип. 37. – С. 3 – 9.
17. Формирование воспаления и фиброза при неалкогольной жировой болезни печени / К.Л. Райхельсон, М.А. Аль-Нахари, Ю.Н. Петрова, Л.И. Назаренко, Крулевский В.А. [и др.] // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. – 2006. – № 24. – С. 82-84.
18. Царегородцева Т.М. Цитокины в гастроэнтерологии / Т.М. Царегородцева. – М.: Анахарсис, 2003. – 96 с.
19. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии / А.А. Ярилин // Иммунология. – 1997. – № 5. – С. 7 – 14.
20. Adams L.A. Nonalcoholic fatty liver disease / L.A. Adams, P. Angulo, D. Lu, K. Undor. – 2005. – Vol. 172. – P. 899 – 905.
21. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease / P. Angulo, K. Undor // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2002. – Suppl. 17. – P. 187 – 191.
22. Charlton M. Nonalcoholic steatohepatitis - sometimes is more / M. Charlton // Congress of gastroenterology & Hepatology, 2001. – P. 283 – 289.
23. Roberts E.A. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): A “growing” problem? / E.A.Roberts // J. Hepatol. – 2007. – Vol. 46. – №6. – 1133–1142.

Слізарова Т.О. Концентрація протизапальних цитокинів (ІЛ-4, ІЛ-10) у сироватці крові хворих на неалкогольний стеатогепатит // Український медичний альманах. – 2011. – Т. 14, № 2. – С. 57-60.

Вивчена концентрація протизапальних цитокинів (ІЛ-4, ІЛ-10) у сироватці крові хворих на неалкогольний стеатогепатит (НАСГ). Встановлено вірогідне підвищення вмісту ІЛ-4 та ІЛ-10 у сироватці крові обстежених з загостренням НАСГ. Застосування загальноприйнятого лікування не забезпечує нормалізації концентрації ІЛ-4 та ІЛ-10 у сироватці крові хворих на НАСГ, що свідчить про доцільність застосування імуноактивних препаратів, спрямованих на відновлення імунного гомеостазу, зокрема цитокинового профілю крові.

Ключові слова: неалкогольний стеатогепатит, протизапальні цитокини (ІЛ-4, ІЛ-10), патогенез.

Елизарова Т.А. Концентрация противоспалительных цитокинов (ІЛ-4, ІЛ-10) в сыворотке крови больных неалкогольным стеатогепатитом // Український медичний альманах. – 2011. – Т. 14, № 2. – С. 57-60.

Изучена концентрация противоспалительных цитокинов (ІЛ-4, ІЛ-10) в сыворотке крови больных неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ). Установлено достоверное повышение содержания ІЛ-4, ІЛ-10 в сыворотке крови обследованных с обострением НАСГ. Применение общепринятого лечения не обеспечивает нормализации концентрации ІЛ-4, ІЛ-10 в сыворотке крови больных НАСГ, что свидетельствует о целесообразности использования иммуноактивных препаратов, направленных на восстановление иммунного гомеостаза, в частности, цитокинового профиля крови.

Ключевые слова: неалкогольный стеатогепатит, противоспалительные цитокины (ІЛ-4, ІЛ-10), патогенез.

Elizarova T.O. Concentration of antiinflammatory cytokines (ІЛ-4, ІЛ-10) at serum of the patients with nonalcoholic steatohepatitis // Український медичний альманах. – 2011. – Т. 14, № 2. – С. 57-60.

The concentration of antiinflammatory cytokines (ІЛ-4, ІЛ-10) at serum of patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH) was studied. It was set increase of ІЛ-4, ІЛ-10 level at serum of the patients with NASH. It was set that application of generally accepted therapy don't provided normalization of concentration of ІЛ-1 β , TNF α at serum of patients with NASH that needed to using of immunoactive preparation to normalization of immune homeostasis.

Key words: nonalcoholic steatohepatitis, antiinflammatory cytokines (ІЛ-4, ІЛ-10), pathogenesis.

Надійшла 24.12.2010 р.

Рецензент: проф. В.Т.Германов