

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА АКТИВОВАНИХ РЕЦЕПТОРІВ НА ЛІМФОЦИТАХ ЗАЛЕЖНО ВІД МАСИ ТІЛА У ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНУ ЖИРОВУ ХВОРОБУ ПЕЧІНКИ У ПОЄДНАННІ З ОЖИРІННЯМ ТА ПАТОЛОГІЄЮ БІЛІАРНОГО ТРАКТУ

О.Ю. Філіппова

ДЗ "Дніпропетровська медична академія МОЗ України"
Кафедра внутрішньої медицини 2 (зав. - проф. О.В. Курята)

Реферат

Мета. Вивчити зміни активованих рецепторів на лімфоцитах залежно від індексу маси тіла у хворих із коморбідним перебігом неалкогольної жирової хвороби печінки у поєднанні з ожирінням та патологією біліарного тракту.

Матеріал і методи. Обстежено 200 хворих з неалкогольною жировою хворобою печінки в поєднанні з ожирінням та патологією біліарного тракту, у яких під час сонографічного або морфологічного дослідження біоптату печінки виявлено ознаки стеатозу печінки, в тому числі у 100 хворих - неалкогольний стеатоз печінки, у 100 - неалкогольний стеатогепатит (із них у 70 - мінімальна активність процесу за рівнем аланінової трансамінази, у 30 - помірна активність). Залежно від ступеню збільшення індексу маси тіла усіх хворих із неалкогольним стеатозом печінки або неалкогольним стеатогепатитом із ожирінням поділено на три групи: 1 група - надлишкова маса тіла; 2 група - ожиріння I ступеню; 3 група - ожиріння II ступеню. Контрольну групу склали 20 практично здорових осіб. Субпопуляційний склад лімфоцитів визначали за допомогою моноклональних антитіл фірми "Сорбент ТМ" до кластерів: CD25+ (рецептори до IL-2), CD95+ (FAS/APO-1), HLA-DR+ методом непрямої імунофлюоресценції та CD16+ (натуральні кілери) за допомогою лімфоцитотоксичного тесту.

Результати й обговорення. Встановлено, що у всіх групах спостереження відбувалося різноманітне вірогідне збільшення активованих рецепторів на лімфоцитах, яке залежало від збільшення параметрів індексу маси тіла і було більш істотним при наявності стеатогепатиту за рівнем CD16+, CD25+, CD95+ імунних маркерів. у групі із неалкогольним стеатогепатитом із помірною активністю були вірогідні передумови до здійснення лізису клітин-мішеней за рівнем відносних CD16+ лімфоцитів (від $p < 0,001$ до $p < 0,05$). Рівень CD25+ лімфоцитів свідчив про наявність вірогідної ранньої клітинної активації у всіх групах спостереження та активації запального процесу особливо у хворих із неалкогольним стеатогепатитом із помірною активністю (від $p < 0,001$ до $p < 0,05$). Доведено, що як при неалкогольному стеатозі печінки, так й при неалкогольному стеатогепатиті спостерігається підвищений рівень експресії CD95+ на лімфоцитах периферійної крові, що свідчить про готовність клітин до апоптозу та подальшого наростання неалкогольної жирової хвороби печінки.

Висновки. У хворих із коморбідним перебігом неалкогольної жирової хвороби печінки у поєднанні із ожирінням та супровідною патологією біліарного тракту ми

спостерігали вірогідне збільшення активованих рецепторів на лімфоцитах (CD16+, CD25+, CD95+), яке залежало від збільшення параметрів індексу маси тіла і було більш істотним при наявності неалкогольного стеатогепатиту.

Ключові слова: активовані рецептори на лімфоцитах, ожиріння, індекс маси тіла, неалкогольний стеатоз печінки, неалкогольний стеатогепатит

Abstract

GENERAL CHARACTERISTICS OF ACTIVATED RECEPTORS ON THE LYMPHOCYTES DEPENDING ON THE BODY MASS INDEX IN PATIENTS WITH NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE COMBINED WITH OBESITY AND PATHOLOGY OF THE BILIARY TRACT

A.Yu. FILIPPOVA

SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine"

Aim of the research is to check the changes of the activated receptors on lymphocytes depending on the body mass index in patients with comorbid course of nonalcoholic hepatic steatosis and nonalcoholic steatohepatitis in combination with obesity and pathology of the biliary tract.

Materials and Methods. The study involved 200 patients with non-alcoholic fatty liver disease in conjunction with obesity and biliary tract pathology, who revealed signs of hepatic steatosis during sonographic and morphological study of liver biopsy: 100 patients with nonalcoholic hepatic steatosis and obesity, 100 - with nonalcoholic steatohepatitis and obesity (70 of which presented with minimal activity of the process in terms of alanine transaminase, and 30 - with moderate activity). Depending on the degree of increase in the body mass index, the patients with nonalcoholic hepatic steatosis and obesity and nonalcoholic steatohepatitis and obesity were divided into three subgroups: subgroup 1 included overweight patients with; subgroup 2 included patients with the first-degree obesity; and subgroup 3 included patients with the second-degree obesity. The control group consisted of 20 virtually healthy individuals. The subpopulation composition of the lymphocytes was determined using monoclonal antibodies of the "Sorberent TM" company to the clusters: CD25 + (receptors for IL-2), CD95 + (FAS / APO-1), HLA-DR+ by indirect immunofluorescence and CD16 + (natural killer

cells) using lymphotoxic test.

Results and Discussion. It was determined that in all observation groups the varied significant increase in the number of activated receptors on lymphocytes occurred, which depended on the increase of the indices of the body mass index, and was more significant in the presence of steatohepatitis in terms of CD16+, CD25+, CD95+ immune markers. In the group with nonalcoholic steatohepatitis with moderate activity there were significant preconditions for implementation of the lysis of the target cells in terms of relative CD16 + lymphocytes (from $p < 0,001$ and $p < 0,05$). The level of CD25+ lymphocytes indicated probable early cell activation in all observation groups, and activation of inflammation, especially in patients with nonalcoholic steatohepatitis with moderate activity (from $p < 0,001$ and $p < 0,05$). It is determined that, in both nonalcoholic hepatic steatosis and nonalcoholic steatohepatitis, the increased level of expression in CD95+ peripheral blood lymphocytes is observed, indicating readiness for cell apoptosis and further progression of nonalcoholic fatty liver disease.

Conclusions. In the patients with the comorbid course of nonalcoholic hepatic steatosis and nonalcoholic steatohepatitis in combination with obesity and pathology of the biliary tract, a significant increase in the number of the activated receptors on lymphocytes was observed (CD16+, CD25+, CD95+) which depended on the increase of the body mass index, and was more significant in the presence of the steatohepatitis.

Key words: activated receptors on lymphocytes, obesity, the body mass index, nonalcoholic hepatic steatosis, nonalcoholic steatohepatitis

Вступ

Механізм перебігу жирового переродження печінки і наступного за ним запального процесу складний і багатогранний [3, 4]. Незважаючи на великий фактичний матеріал, зібраний дослідниками, на цьому етапі розвитку науки актуальним стає пошук патогенетичних зв'язків, розкриття регуляторних імунних механізмів при різних захворюваннях, а також питання розширення лабораторного діагностичного пошуку, і в тому числі при коморбідному перебігу неалкогольної жирової хвороби печінки (НАЖХП) у поєднанні із ожирінням (ОЖ) на тлі патології біліарного тракту (БТ).

Мета - вивчити зміни активованих рецепторів на лімфоцитах залежно від індексу маси тіла (ІМТ) у хворих із коморбідним перебігом НАЖХП у поєднанні із ОЖ та патологією БТ.

Матеріал і методи

Обстежено 200 хворих із НАЖХП у поєднанні із ОЖ і патологією БТ, у яких підчас сонографічного

або морфологічного дослідження біоптату печінки виявлено ознаки стеатозу печінки, в тому числі у 100 хворих - неалкогольний стеатоз печінки (НАСП), у 100 - неалкогольний стеатогепатит (НАСГ): із них у 70 - мінімальна активність (м.а.) процесу за рівнем аланінової трансамінази, у 30 - помірна активність (п.а.)). Усі пацієнти мали супровідну патологію з боку біліарного тракту: хронічний некалькульозний холецистит, хронічний калькульозний холецистит, післяхолецистектомічний синдром. Серед хворих було 59 (29,5%) чоловіків та 141 (70,5%) жінок. Середній вік пацієнтів - (52,57±0,79) року. Контрольна група складала 20 практично здорових осіб (ПЗО), порівнюваних за віком (середній вік - 48,7±3,28 років) і статтю (4 чоловіки, 16 жінок) із пацієнтами основних груп ($p > 0,05$). Критерієм включення була письмова згода пацієнтів на участь у дослідженні й виконання усіх необхідних лікувально-діагностичних процедур.

Діагноз НАЖХП, ОЖ та патології БТ встановлено згідно із глобальними практичними рекомендаціями Всесвітньої Гастроентерологічної Організації 2009 р. WGO Global Guideline Obesity) [2], стандартизованими протоколами діагностики та лікування хвороб органів травлення згідно із наказом МОЗ України № 271 від 13.06.2005 р., уніфікованим клінічним протоколом первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги "Неалкогольний стеатогепатит", МКХ-10 [6,7]. Хворі, яких залучено у дослідження, не зловживали алкоголем (споживання <50 г етанолу/тиждень для чоловіків, <30 г етанолу/тиждень для жінок протягом останнього року). В обстежених осіб не виявлено сироваткових маркерів вірусних гепатитів В і С, аутоімунних та спадкових захворювань печінки. Усім пацієнтам проводили поглиблене антропометричне обстеження: натще зважували, вимірювали зріст хворого, визначали об'єм талії (ОТ) і об'єм стегон (ОС). Для визначення характеру розподілу жиру в організмі використовували показник співвідношення ОТ до ОС (ОТ/ОС). Ожиріння вважали абдомінальним, якщо у жінок величина ОТ/ОС >0,88, у чоловіків >0,90 [2]. ІМТ визначали за формулою Кетле. Залежно від ступеню збільшення ІМТ кожну із груп хворих з НАСП (n=100) та НАСГ (n=100) і супровідним ОЖ поділено на три підгрупи: з ІМТ 25-29,9 кг/м² - надлишкова маса тіла (НМТ); з

ІМТ 30-34,9 кг/м² - ОЖ I ступеню; з ІМТ 35-39,9 кг/м² - ОЖ II ступеню.

Субпопуляційний склад лімфоцитів визначали за допомогою моноклональних антитіл фірми "Сорбент ТМ" (Москва) до кластерів: CD25+ (рецептори до ІL-2), CD95+ (FAS/АРО-1), HLA-DR+ методом непрямої імуофлюорисценції [8] та CD16+ (натуральні кілери) за допомогою лімфоцитотоксичного тесту (стандартний метод NIH США) [9].

Для статистичного аналізу даних використовували ліцензійну програму STATISTICA 6.1 (№ АGAR909E415822FA). Кількісні показники наведено у вигляді середнього значення та стандартної похибки середнього ($M \pm m$). Для порівняння середніх показників у всіх підгрупах використовували критерій Стьюдента і однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA; для відносних показників - критерій Хі-квадрат Пірсона (χ^2).

Результати й обговорення

Ми вивчали активовані клітини із рецепторами CD16+, CD25+, CD95+, HLA-DR (табл. 1), які приймають участь у цитотоксичній імунній відповіді. Цитотоксична імунна відповідь включає неспецифічну ланку - CD16+ і антигенспецифічну ланку - цитотоксичні лімфоцити, що забезпечує захист організму від внутрішньоклітинних патогенів. CD16-лімфоцити - клітини-ефектори, окрема популяція лімфоцитів, вони відрізняються від Т- і В-лімфоцитів як за походженням, так й за функціональними властивостями і поверхневими рецепторами. Вони володіють спонтанною цитотоксичною активністю проти різних пухлинних клітин і деяких нормальних клітин, забезпечуючи перший рівень захисту проти пух-

лин і внутрішньоклітинних інфекцій до включення специфічних імунних механізмів [8].

На відміну від інших цитотоксичних клітин CD16+-лімфоцити опосередковують цитотоксичні реакції без пресенсибілізації і без обмежень за експресією антигенів класів I або II головного комплексу гістосумісності на клітинах-мішенях. Висока цитотоксичність та здатність продукувати багато цитокінів - основні властивості CD16+ - лімфоцитів [9].

Відносні показники CD16+ були збільшені в усіх групах спостереження, проте вірогідність різниці зростання показника встановлено лише у групі хворих НАСГ п.а. у 1,3 рази з рівнем - $24,0 \pm 1,13\%$ щодо ПЗО - з рівнем $19,10 \pm 1,05\%$ ($p < 0,001$) та у 1,13 рази у відношенні до НАСГ м.а. та рівнем CD16+ - $21,06 \pm 0,83\%$ ($p < 0,05$).

Отримані факти є підставою для твердження про те, що збільшення відносних CD16+ лімфоцитів у хворих в групі НАСГ п.а., є основою для здійснення лізису клітин-мішеней, які організм визнав чужими - пошкоджені клітини при наявності запального процесу, який є властивим для неалкогольного стеатогепатиту.

CD25 - ранній маркер активації клітин, це активовані Т-лімфоцити, які стимулюють антитілоутворення та цитотоксичність. Цей показник відображає здатність лімфоцитів до проліферації і диференціювання і характеризує функціональний стан активованих Т-лімфоцитів [1, 10]. При гіперактивності Т-клітинного імунітету кількість цих клітин зростає. Відносний показник CD25 лімфоцитів також був збільшений в усіх групах спостереження від 1,3 до 1,2 рази, відповідно у пацієнтів з НАСП-1 ($p < 0,001$) та НАСГ м.а. ($p < 0,05$) щодо ПЗО. При міжгруповому порівнян-

Таблиця 1

Показники активованих рецепторів на лімфоцитах у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки у поєднанні з ожирінням і патологією біліарного тракту ($M \pm m$)

Показники	ПЗО, n=20	НАСП-1, n=100	НАСГ-2, n=100	
			НАСГ м.а., n=70	НАСГ п.а., n=30
CD16+, %	19,10±1,05	21,77±0,70	21,06±0,83	24,0±1,13**#
CD16+, 10 ⁹ /л	0,328±0,024	0,327±0,016	0,303±0,014	0,335±0,025
CD25+, %	18,97±1,08	24,02±0,65**	23,10±0,87*	26,47±1,31**#
CD25+, 10 ⁹ /л	0,344±0,028	0,359±0,018	0,309±0,017	0,354±0,029
CD95+, %	16,87±0,66	25,29±0,58**	23,93±0,75**	26,33±1,35**
CD95+, 10 ⁹ /л	0,322±0,019	0,330±0,014	0,331±0,019	0,325±0,033
HLA-DR, %	21,77±0,66	21,79±0,72	21,29±0,62	22,73±1,16
HLA-DR, 10 ⁹	0,333±0,023	0,325±0,019	0,316±0,018	0,355±0,033

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,001$ порівняно з групою ПЗО; # - $p < 0,05$ порівняно з групою хворих з НАСГ м.а.

ні найвищі CD25+ лімфоцити були в групі НАСГ п.а. і дорівнювали $26,47 \pm 1,31\%$ зі збільшенням у 1,14 рази по відношенню до групи з НАСГ м.а. і рівнем CD25+ - $23,10 \pm 0,87\%$ ($p < 0,05$).

Отримані дані щодо рівня CD25+ лімфоцитів свідчать про наявність ранньої клітинної активації в усіх групах спостереження та активації запального процесу особливо в групі НАСГ п.а. (від $p < 0,001$ до $p < 0,05$).

Важливим механізмом підтримки коректного числа клітин в організмі є апоптоз або програмована клітинна смерть. Апоптоз є важливим компонентом, який сприяє прогресуванню НАЖХП. В імунній системі він є одним з основних регуляторів чисельності популяцій клітин. Саме цей процес обмежує експансію активованих клонів, перешкоджаючи розвитку запалення і аутоімунних реакцій. Процес запрограмованої загибелі клітини здійснюється і контролюється імунними механізмами [5]. Шляхом апоптозу регулюється відповідь імунокомпетентних клітин на антигенні стимули, визначається характер, динаміка і тривалість імунної відповіді, формування імунологічної толерантності. У апоптотичній реакції беруть участь багато клітинних механізмів, серед яких важливе значення мають кластерні варіанти лімфоцитів з їх розпізнавальними механізмами CD16, активаційним призначенням (CD25 і CD8) і сигнальною системою (CD95 - Fas), де сигнальна функція підчас апоптотичної реакції і, особливо, на заключному етапі належить CD95 (Fas - апоптоз) лімфоцитів [8].

У XX столітті був відкритий на цитоплазматичній мембрані клітин перший спеціалізований рецептор з сімейства TNF-рецепторів для індукції апоптозу - CD95+ (Fas/Apo-1). В імунній системі CD95+ залучений у опосередковану T-лімфоцитами цитотоксичність. Оскільки апоптоз відіграє важливу роль у елімінації автореактивних клітин, контролює тривалість, інтенсивність імунної відповіді, ступінь пошкодження тканин і є механізмом, що підтримує баланс лімфоїдних клітин в організмі, то вивчення особливостей цього процесу при патології носить важливий прогностичний характер [5].

У нашому дослідженні відносні параметри CD95+ були підвищені в усіх групах спостереження. Вже при клінічній формі НАСП збільшення рівня CD95+ було у 1,5 рази і дорівнювало -

$25,29 \pm 0,58\%$ щодо ПЗО з нормальним рівнем у $16,87 \pm 0,66\%$ ($p < 0,001$). Найвищий міжгруповий рівень CD95+ спостерігався у пацієнтів в групі НАСГ п.а. і становив - $26,33 \pm 1,35\%$ зі збільшенням у 1,6 рази відносно ПЗО ($p < 0,001$).

У результаті проведених досліджень встановлено, що як при НАСП, так і при НАСГ спостерігається підвищений рівень експресії CD95+ на лімфоцитах периферичної крові (готовність до апоптозу та подальшому прогресуванню НАЖХП). Збільшення CD95+ в усіх групах спостереження також може бути пов'язано з запобіганням гіперактивації імунної системи або з дією ендотоксинів, які виникають в умовах ендогенної інтоксикації при коморбідному перебігу НАЖХП.

Для більш глибокого аналізу характеру активації клітин у хворих з НАСП і НАСГ у поєднанні з ОЖ і патологією БТ були вивчені маркери HLA-DR. Показники HLA-DR при імунофенотипуванні є маркером не тільки пізньої, але і тривалої активації клітин. HLA-DR позитивні лімфоцити довго циркулюють у крові, а експресія цього маркера найбільш повно відображає активаційний стан клітин [8]. Тому саме HLA-DR в нашій роботі використовували для визначення наявності клітинної активації. При проведенні міжгрупового аналізу параметри HLA-DR мали тенденцію до збільшення лише в групі НАСГ п.а. по відношенню до ПЗО та хворих з інших груп, але ця різниця не була значущою. Отримані дані свідчать про відсутність пізньої і тривалої клітинної активації та вираженого запального процесу в усіх групах спостереження.

Таким чином, надлишок антитіл, який може виникати при змінах T- та B-клітинного імунітету, сприяє посиленню цитотоксичних реакцій і призводить до імунокомплексного ураження печінки. Нові мембрани гепатоцитів можуть придбати властивості чужорідного антигену, індукуючого атаку T-кілерів, що закінчується лізисом клітин-мішеней, тобто паренхіми печінки.

Результати дослідження показали, що в усіх групах спостереження НАСП-1 та НАСГ-2 відбувається різноманітне збільшення активованих рецепторів на лімфоцитах. Так, у групі НАСГ п.а., є вірогідні передумови для здійснення лізису клітин-мішеней за рівнем відносних CD16+ лімфоцитів (від $p < 0,001$ до $p < 0,05$). Отримані дані

щодо рівня CD25+ лімфоцитів свідчать про наявність вірогідної ранньої клітинної активації в усіх групах спостереження та активації запального процесу, особливо у групі НАСГ п.а (від $p < 0,001$ до $p < 0,05$) і відсутності вірогідної пізньої та тривалої активації клітин за показниками HLA-DR. Водночас, встановлено, що як при НАСП, так й при НАСГ спостерігається підвищений рівень експресії CD95+ на лімфоцитах периферійної крові (готовність до апоптозу та подальшому наростанню НАЖХП).

Отримані дані є передумовою для аналізу основних змін показників активованих рецепторів на лімфоцитах у хворих на НАЖХП у поєднанні з ОЖ та патологією БТ залежно від збільшення параметрів ІМТ (табл. 2).

Ми встановили, що підвищення абсолютних та відносних показників CD16+ спостерігали у хворих із НАСП у поєднанні із ОЖ та патологією БТ лише при ІМТ 35-39,9 кг/м² зі збільшенням у 1,2 рази за рівнем абсолютних параметрів щодо ПЗО, у 1,5 рази у відношенні до хворих із ІМТ 25-29,9 кг/м² та у 1,4 рази стосовно пацієнтів із ІМТ 30-34,9 кг/м² ($p < 0,05$ при всіх порівняннях; $p_F = 0,003$). Отримані дані свідчать про наявність передумов до здійснення лізису клітин-мішеней вже у хворих на стадії НАСП, але при наявності ОЖ II ступеню. У цих пацієнтів відзначали підвищені показники відносного рівня CD25+ в усіх групах спостереження зі збільшенням у 1,2 рази при ІМТ-1.1 та ІМТ-2.1 у порівнянні із ПЗО ($p < 0,05$) та у 1,4 рази із зіставленням з хворими на ІМТ-3.1 ($p < 0,001$). Окрім цього, абсолютний показник CD25+ також максимально був збільшеним у 1,3 рази в групі з ІМТ-

3.1 у порівнянні із ІМТ-1.1 ($p < 0,05$). Ці факти свідчать про наявність ранньої клітинної активації в усіх групах спостереження та особливо в групі з ІМТ-3.1 при наявності ОЖ II ступеню.

Маркери пізньої і тривалої клітинної активації у хворих в групах НАСП-1 за рівнем відносних та абсолютних показників HLA-DR в усіх групах спостереження не були збільшені і відповідно не мали залежності від параметрів ІМТ.

Зміни показників CD95+ свідчили про активацію параметра із вираженою залежністю від ІМТ. Так, вже при наявності НМТ в групі з ІМТ-1.1 спостерігалось збільшення CD95+ за рівнем відносних показників у 1,4 рази щодо ПЗО, в групі з ІМТ-2.1 - у 1,5 рази та при ІМТ-3.1 - у 1,6 рази ($p < 0,001$ при всіх порівняннях). Максимальний абсолютний показник CD95+ також спостерігався при ОЖ II ступеню зі збільшенням у 1,4 рази по відношенню до пацієнтів з НМТ ($p < 0,05$; $p_F = 0,013$). Ймовірно, це свідчить про те, що в усіх групах, вже на стадії стеатозу печінки, спостерігається готовність до апоптозу та подальшого прогресування НАЖХП від НАСП до НАСГ за умов збільшення ІМТ.

При проведенні порівняння досліджуваних показників активованих рецепторів на лімфоцитах у хворих в групах НАСГ-2 були виявлені аналогічні, але більш істотні зміни за рівнем деяких показників, які залежать від параметрів ІМТ (табл. 2). Одержані результати свідчать про те, що абсолютний рівень CD16+ максимально зріс при ІМТ 35-39,9 кг/м² у 1,3 рази в порівнянні з групою з ІМТ 30-34,9 кг/м² ($p < 0,05$; $p_F = 0,045$). Таким чином, за рівнем абсолютних показників CD16+ лімфоцитів, формуються передумови до

Таблиця 2

Порівняльна характеристика показників активованих рецепторів на лімфоцитах у хворих на неалкогольну жирову хворобу печінки у поєднанні з ожирінням і патологією біліарного тракту залежно від ІМТ (M±m)

Показник	ПЗО n=20	НАСП-1, n=100				r _F між групами	НАСГ-2, n=100			
		ІМТ-1.1 (25-29,9 кг/м ²), n=31	ІМТ-2.1 (30-34,9 кг/м ²), n=38	ІМТ-3.1 (35-39,9 кг/м ²), n=31			ІМТ-1.2 (25-29,9 кг/м ²), n=40	ІМТ-2.2 (30-34,9 кг/м ²), n=37	ІМТ-3.2 (35-39,9 кг/м ²), n=23	r _F між групами
CD16+, %	19,10±1,05	22,39±1,42	20,26±1,01	23,00±1,22*	0,227	23,28±1,19*	20,46±1,04	22,00±1,37	0,195	
CD16+, 10 ⁹ /л	0,328±0,024	0,279±0,023	0,300±0,026	0,408±0,031*##	0,003	0,310±0,020	0,284±0,015	0,365±0,030"	0,045	
CD25+, %	18,97±1,08	23,13±1,43*	23,24±1,00*	25,87±0,85**	0,160	23,18±1,11*	23,30±1,31*	27,04±1,37**#	0,094	
CD25+, 10 ⁹ /л	0,344±0,028	0,323±0,032	0,344±0,028	0,413±0,031#	0,108	0,308±0,022	0,301±0,024	0,383±0,035*##	0,084	
CD95+, %	16,87±0,66	24,00±0,91**	25,21±0,96**	26,68±1,10**	0,190	23,78±1,05**	23,81±0,96**	27,52±1,57**##	0,063	
CD95+, 10 ⁹ /л	0,322±0,019	0,284±0,019	0,320±0,019	0,387±0,033#	0,013	0,280±0,017	0,294±0,018	0,472±0,048*##	<0,001	
HLA-DR, %	21,77±0,66	21,87±1,20	22,26±1,03	21,13±1,56	0,809	22,43±0,96	21,08±0,71	21,52±1,36	0,566	
HLA-DR, 10 ⁹ /л	0,333±0,023	0,308±0,027	0,304±0,028	0,368±0,0042	0,308	0,332±0,025	0,321±0,026	0,331±0,037	0,951	

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,001$ порівняно з групою ПЗО; # - $p < 0,05$ порівняно з відповідною групою хворих з ІМТ 25-29,9; - $p < 0,05$ порівняно з відповідною групою хворих з ІМТ 30-34,9; r_F - рівень значимості відмінностей показників між групами з різним ІМТ в цілому за однофакторним дисперсійним аналізом ANOVA

здійснення лізису клітин-мішеней, які організм визнав чужими - пошкоджені клітини при наявності запального процесу, який є властивим для неалкогольного стеатогепатиту, за умов збільшення ІМТ, тобто в даному дослідженні при наявності ОЖ II ступеню.

Аналізуючи показники CD25+ спостерігалось збільшення відносних та абсолютних параметрів практично в усіх групах спостереження. Так, рівень відносних CD25+ лімфоцитів в групах з ІМТ-1.2 та ІМТ-2.2 було збільшено у 1,2 рази ($p < 0,05$), а при ІМТ-3.2 вже у 1,4 рази по відношенню до ПЗО ($p < 0,001$) та у 1,2 рази щодо хворих з ІМТ-1.2 ($p < 0,05$).

Отримані дані щодо рівня CD25+ лімфоцитів свідчать про наявність вірогідної ранньої клітинної активації в усіх групах спостереження та активації запального процесу особливо в групі з ІМТ-3.2 тобто у хворих при наявності ОЖ II ступеню (від $p < 0,001$ до $p < 0,05$) і демонструє чітку залежність від параметрів ІМТ у пацієнтів з коморбідним перебігом НАЖХП.

Аналогічно хворим з груп НАСП, маркери пізньої і тривалої клітинної активації у хворих з НАСГ за рівнем відносних та абсолютних показників HLA-DR в усіх групах спостереження не були збільшені і відповідно не мали залежності від ІМТ.

Для виявлення існуючих параметрів готовності клітин до апоптозу в усіх групах НАСГ було проаналізовано стан CD95+ лімфоцитів. Згідно отриманих даних, в усіх групах спостереження були активовані відносні показники CD95+ лімфоцитів. Так, збільшення цього маркера у 1,4 рази спостерігалось в групах з ІМТ-1.2 та ІМТ-2.2, а вже в групі з ІМТ-3.2 у 1,6 рази щодо ПЗО ($p < 0,001$ при всіх порівняннях) та у 1,2 рази в порівнянні з хворими з ІМТ-1.2 та ІМТ-2.2 ($p < 0,05$), що вказує на залежність цього маркера від збільшення параметрів ІМТ у досліджуваних групах хворих. Аналіз абсолютних показників CD95+ лімфоцитів також вказував на максимальне збільшення цього маркера при ОЖ II ступеню зі збільшенням відносно ПЗО у 1,5 рази ($p < 0,05$) та відносно хворих з НМТ та ОЖ I ступеню у 1,7 і 1,6 рази відповідно ($p < 0,05$ при всіх порівняннях; $p_F < 0,001$). Порівняльний міжгруповий аналіз CD95+ лімфоцитів у хворих з груп НАСГ свідчив про готовність клітин до апоптозу

та подальшого прогресування НАЖХП з мірою збільшення ІМТ.

Висновки

1. У пацієнтів з неалкогольною жирною хворобою печінки у поєднанні з ожирінням і супровідною патологією біліарного тракту в усіх групах спостереження, а саме у хворих з неалкогольним стеатозом печінки та неалкогольним стеатогепатитом відбувалося збільшення активованих рецепторів на лімфоцитах, яке залежало від збільшення параметрів ІМТ і було більш істотним при наявності стеатогепатиту за рівнем CD16+, CD25+, CD95+ імунних маркерів.
2. Виявлений характер змін свідчить про готовність клітин до апоптозу, як при неалкогольному стеатозі печінки так і при неалкогольному стеатогепатиті, за рівнем CD95+ та про можливість прогресування неалкогольної жирної хвороби печінки від стеатозу до стеатогепатиту, а також про наявність ранньої клітинної активації і активації запального процесу, за рівнем CD25+, особливо у хворих при наявності супровідного ожиріння II ступеню.

Перспективи подальших досліджень. В подальших роботах планується вивчення змін активованих рецепторів на лімфоцитах залежно від супровідної патології з боку БТ та виявлення їх впливу на прогресування основного захворювання у хворих з коморбідним перебігом НАЖХП та ОЖ на тлі патології БТ.

Література

1. Longhi MS, Ma Y, Bogdanos DP: Impairment of CD4(+) CD25(+) regulatory T-cells in autoimmune liver disease. *Hepatology* 2004, 41, 31-37.
2. Toouli J, Fried M, Ghafoor KA: Obesity World Gastroenterology Organisation Global Guideline 2009, 30.
3. Sydoruk A, Boychuk T, Sydoruk R, Sydoruk L: Immune and metabolic disorders in obese patients with hepatic steatosis and hypertension associate with PPAR-GAMMA2 PRO12ALA and ACE I/D genes' polymorphisms. *United European Gastroenterology Journal* 2015, 3(1), 59.
4. Filippova A: Non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease in patients suffering from biliary tract pathology and obesity: clinical and functional aspects. *Modern Science Moderni Veda*. 2015;4:134-149.
5. Akimova V. N. The expression of CD95 on peripheral blood lymphocytes in acute and chronic abdominal diseases *Modern problems of science and education. Electronic scientific journal* 2014;1. Russian (Акимова В.Н. Экспрес-

- сия CD95 на лимфоцитах периферической крови при острых и хронических абдоминальных заболеваниях. Современные проблемы науки и образования. (Электронный научный журнал) 2014;1).
6. Order of HM from Ukraine 13.06.2005 N 271. On approval of the protocols of medical care to patients with a degree in Gastroenterology. Ukrainian. (Наказ МОЗ України від 13.06.2005 №271 "Про затвердження протоколів надання медичної допомоги хворим за спеціальністю Гастроентерологія").
 7. Order of HM from Ukraine 06.08.2014 N 826. Unified clinical protocols of primary, secondary (specialized) medical care "Nonalcoholic steatohepatitis". Ukrainian. (Наказ МОЗ України від 06.08.2014 № 826 Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги "Неалкогольний стеатогепатит").
 8. Petrov R. V., Khaitov R. M., Pinegin B. V. The immune status of the person in mass surveys: methodological recommendations for researchers and physicians healthcare practice. Immunology 1992;6,51-63. Russian (Петров Р.В., Хаитов Р.М., Пинегин В.В. Оценка иммунного статуса человека при массовых исследованиях : методические рекомендации для научных работников и врачей практического здравоохранения. Иммунология 1992;6,51-63).
 9. Sochner A.M., Belchenko E.I., Burstein A.M. Limfocytotoxic test as a method of identifying subpopulations of T-lymphocytes with monoclonal antibodies. Lab.business 1989;3,29-32. Russian (Сочнер А.М., Бельченко И.Е., Бурштейн А.М. Лимфоцитотоксический тест как метод идентификации субпопуляций Т-лимфоцитов моноклональными антителами. Лаб.дело 1989;3,29-32).
 10. Zenin V., Aksenov N.D., Shatrova A. I., Marakhova I.I. The expression of CD25 in phytohemagglutinin- or interleukin-2-stimulated human peripheral blood lymphocytes. Cytology 2009, 6(51), 506-510. Russian (Зенин В.В., Аксенов Н.Д., Шатрова А.И., Марахова И.И. Динамика экспрессии CD25 в лимфоцитах периферической крови человека, стимулированных фитогемагглютинином или интерлейкином-2. Цитология 2009; 6(51);506-510).