© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2013
УДК 612.017.1: [616.36 — 002 — 003.826 + 616.233 — 002.3

Стан клітинної ланки імунітету у пацієнтів з неалкогольним стеатогепатитом, сполученим з хронічним бронхітом та ожирінням

Л.М.Іванова, К.К.Налапко

ДЗ «Луганський державний медичний університет»
Луганськ, Україна

У статті наведені дані щодо стану клітинної ланки імунітету у хворих з неалкогольним стеатогепатитом, сполученим з хронічним бронхітом та ожирінням. Виявлено, що при загостренні НАСГ у хворих із поєднаною патологією спостерігались імунні розлади у вигляді Т-лімфопенії, зменшенні кількості CD4+-клітин та імунорегуляторного індексу CD4/CD8, пригнічення функціональної активності Т-клітин.

Ключові слова: неалкогольний стеатогепатит, хронічний бронхіт, ожиріння, імунітет.

ВСТУП

Проблема діагностики та лікування захворювань печінки є однією з найбільш актуальних у сучасній медицині і має не тільки важливе медичне, але й соціальне значення [1, 3, 4].

За останні десятиріччя спостерігається зростання частоти дифузних невірусних уражень печінки, особливо стеатозу і неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ). НАСГ вражає переважно осіб працездатного віку, характеризується тривалим перебігом з частими рецидивами, що є причиною втрати працездатності та інвалідизації хворих [2, 4].

Розвиток НАСГ найчастіше зумовлений метаболічними розладами, а саме ожирінням, гіперліпідемією та цукровим діабетом II типу. Однією зі спільних патогенетичних ланок стеатогепатиту та ожиріння, що веде до прогресування захворювання, є «оксидативний стрес» — «перший поштовх», що запускає процеси перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). Продукти ПОЛ (альдегіди) здатні пошкоджувати мембрани гепатоцитів, активувати зірчасті клітини печінки з розвитком запалення і фіброзу [1, 4, 10, 11, 15, 18].

Однак багатьма вченими доказано, що далеко не в усіх хворих стеатоз печінки прогресує до стадії запально-некротичних змін і фіброзу. Це дозволило припустити, що для розвитку НАСГ потрібна дія інших факторів. Одним із таких факторів, які називають «другим поштовхом», вважається підвищена продукція цитокінів імунокомпетентними клітинами [4, 6, 9, 13, 16].

Численні експериментальні дані і поодинокі клінічні роботи свідчать про те, що прозапальні і протизапальні цитокіни секретуються переважно клітинами β-макрофагальної системи і зірчастими клітинами (інтерлейкін-1 (IL-1), гранулоцитарно-макрофагальний IL-6, фактор некрозу пухлини (TNFα), колоніестимулюючий фактор росту, трансформуючий фактор росту та ін.), залучені в контроль процесів ушкодження, запалення і репарації печінки [8, 18, 19]. Відомо, що в патогенезі хронічного бронхіту (ХБ) також простежуються розлади імунного гомеостазу [14].

Однак більш детальні дані про стан імунних показників у хворих на НАСГ, у тому числі у сполученні з хронічним бронхітом та ожирінням, у науковій літературі практично відсутні. Виходячи із цього, ми вважали доцільним проаналізувати стан клітинної ланки імунітету у таких хворих.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами: робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи (НДР) ДЗ «Луганський державний медичний університет» і є фрагментом НДР кафедри пропедевтики внутрішньої медицини «Медична реабілітація хворих зі сполученою патологією» (№ держреєстрації 0109U004608).

Метою дослідження було вивчити стан клітинної ланки імунітету у хворих на неалкогольний стеатогепатит у сполученні з хронічним бронхітом та ожирінням.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Нами було обстежено 120 пацієнтів з НАСГ у поєднанні з ХБ на тлі ожиріння віком від 23 до 75 років. Серед обстежених хворих переважали жінки — 69 (62%), чоловіків було 45 (38%). При цьому більшість складали пацієнти працездатного віку 40-45 років (63 особи — 55,3%). У контрольну групу увійшли 35 практично здорових осіб, вік і стать яких відповідали аналогічним показникам хворих.

Усім пацієнтам проводили комплексне обстеження, яке включало клінічні, антропометричні, лабораторні та інструментальні методи дослідження. Верифікація діагнозу ХБ здійснювалася на підставі даних анамнезу, клінічного, лабораторного та рентгенологічного дослідження відповідно до вимог Наказу МОЗ України від 19.03.2007 р. №128 «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Пульмонологія».

Діагноз НАСГ виставляли виходячи з даних анамнезу, клінічного, лабораторного (біохімічного) дослідження та результатів сонографічного дослідження органів черевної порожнини відповідно до вимог Наказу МОЗ України від 13.06.2005 р. №271 «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Гастроентерологія».

Діагноз ожиріння виставлявся за даними анамнезу та результатами антропометричного дослідження, що включало визначення індексу маси тіла (ІМТ). Серед обстежених хворих 47,5% пацієнтів мали I ступінь, 35,8% — II ступінь та 16,7% — III ступінь ожиріння.

Усі пацієнти були розподілені на дві групи, рандомізовані за статтю, віком, тяжкістю захворювання. Основну групу склали 68 пацієнтів, групу зіставлення — 52 хворих.

Лабораторне дослідження включало визначення активності аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ), гаммаглютамілтранспептидази (ГГТП), рівня загального та прямого білірубіну, білків крові, показників ліпідного профілю крові, у тому числі загального холестерину (ХС), ліпопротеїдів низької щільності (ХС ЛПНЩ), ліпопротеїдів високої щільності (ХС ЛПВЩ), ліпопротеїдів дуже низької щільності (ХС ЛПДНЩ), тригліцеридів (ТГ) за допомогою біохімічного аналізатора Vitalab Flexor-2000 (Нідерланди) [7].

Імунологічні дослідження включали вивчення показників клітинної та гуморальної ланок імунітету, цитокіновий профіль крові (ЦПК). Стан клітинної ланки імунітету — кількість загальної популяції Т- (CD3+) та В-лімфоцитів (CD22+), субпопуляцій Т-хелперів/індукторів (CD4+) та Т-супресорів/кілерів (CD8+) у периферичній крові в цитотоксичному тесті із застосуванням комерційних моноклональних антитіл (МКАТ) класів CD3+, CD4+, CD8+, CD22+ виробництва НВЦ «МедБиоСпектр» (РФ, Москва). Вираховувався імунорегуляторний індекс CD4/CD8, що трактувався як співвідношення Т-лімфоцитів з хелперною та супресорною активністю (Th/Ts). Оцінка виявлених зсувів здійснювалася методом «імунологічного компасу» [10]. Функціональна активність Т-лімфоцитів вивчалася за допомогою реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ) при постановці її мікрометодом [5]. Концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові вивчали методом преципітації в розчині поліетиленгліколю (ПЕГ) з молекулярною масою 6000 D. Молекулярний склад ЦІК з визначенням велико- (19>S), середньо- (11S-19S) та дрібномолекулярних (<11S) фракцій визначали шляхом диференційованої преципітації у 2,0%, 3,5% та 6,0% розчинах ПЕГ.

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали за допомогою одно- та багатофакторного дисперсійного аналізу (пакети ліцензійних програм Microsoft Office 2003, Microsoft Excel Stadia 6.1/prof та Statistica) [12].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз результатів імунологічного обстеження хворих зі сполученою патологією дозволив встановити, що в періоді загострення НАСГ мали місце вірогідні зсуви з боку імунологічних показників клітинної ланки, які характеризувалися Т-лімфопенією, дисбалансом субпопуляційного складу Т-лімфоцитів переважно за рахунок зниження кількості циркулюючих Т-хелперів/індукторів (CD4+), зменшенням імунорегуляторного індексу CD4/CD8 (Th/Ts), а також функціональної активності Т-лімфоцитів за даними РБТЛ.

Абсолютна кількість CD3+-лімфоцитів була знижена в середньому в 1,6 рази ($p<0,01$). В основній групі рівень CD3+-клітин складав у середньому 46,2±1,3%, у групі зіставлення — 45,9±1,2%, тобто був зниженим в 1,51 та 1,52 разу відповідно в порівнянні з нормою.

Кількість CD4+-клітин в обстежених хворих зменшувалась у середньому в 1,4 разу (31,5±0,8%; $p<0,01$). Кількість CD4+-лімфо-

ТАБЛИЦЯ 1

Показники клітинної ланки імунітету у хворих на НАСГ у сполученні з ХБ та ожирінням (M±m)

Імунологічні показники		Норма	Основна група (n=68)	Група зіставлення (n=52)	P
CD3+	%	69,8±1,2	46,2±1,4**	45,9±1,2**	>0,05
	г/л	1,32±0,04	0,83±0,03***	0,82±0,02***	=0,05
CD4+	%	45,6±1,5	31,8±0,8**	32,0±0,7**	>0,05
	г/л	0,87±0,03	0,57±0,02***	0,57±0,03***	=0,05
CD8+	%	22,3±0,9	18,4±0,4**	18,7±0,5**	>0,1
	г/л	0,42±0,02	0,33±0,02*	0,33±0,03*	>0,05
CD4/CD8		2,04±0,03	1,73±0,01***	1,71±0,01***	<0,05
CD22+	%	21,6±1,1	19,3±1,2*	20,0±1,1	>0,1
	г/л	0,41±0,02	0,35±0,01*	0,36±0,02*	>0,05
РБТЛ з ФГА	%	69,5±2,3	50,4±1,6**	49,9±1,7**	<0,01

Примітки: *вірогідність різниці відносно норми: * — при p<0,05; ** — при p<0,01; *** — при p<0,001; P — вірогідність різниці між хворими основної групи та групи зіставлення.*

цитів (Т-хелперів/індукторів) у групі зіставлення була в середньому в 1,43 разу нижче за норму у відносному вирахуванні та в 1,53 разу — в абсолютному (p<0,01). В основній групі хворих відносна кількість Т-хелперів (CD4+) була в 1,43 разу нижче за норму, в абсолютному — в 1,53 разу (p<0,001). Таким чином, в основній групі відзначалося зменшення кількості Т-хелперів/індукторів як у відносному, так і в абсолютному обчисленні.

Рівень лімфоцитів з фенотипами CD8+ у більшості обстежених на НАСГ у сполученні з ХБ та ожирінням знижувався, хоча у частини хворих знаходився у нижньої межи норми. Так, вміст CD8+-клітин (Т-супресори/кілери) у відносному плані дорівнював у середньому 18,6±0,6%, тобто кратність зменшення відносно норми складала 1,2 разу. Кількість Т-супресорів/кілерів в обстежених основної групи та групи зіставлення зменшувалася в 1,21 та 1,19 разу відповідно. Абсолютна кількість CD8+-клітин була помірно знижена в обох групах обстежених (p<0,05). Імунорегуляторний індекс CD4/CD8 був зменшений в середньому в 1,2 разу (1,69±0,02 при нормі 2,04±0,03; p<0,01). При цьому співвідношення клітин з хелперною та супресорною активністю (CD4/CD8) в основній групі було менше норми в 1,18 разу (p<0,01), у групі зіставлення — в 1,19 разу (p<0,001) (табл. 1).

Відносна кількість CD22+-лімфоцитів (тотальна популяція В-клітин) у хворих з поєднаною патологією помірно зменшувалась у відносному та суттєво в абсолютному обчисленні відносно норми. Середній рівень CD22+-клітин складав 19,6±1,4% (при нормі 21,6±1,3%; p>0,05). Абсолютна кількість В-клітин в обстежених хворих була помірно знижена (p<0,05). Число В-клітин у хворих основної групи дорівнювало 19,3±1,8%, у групі зіставлення — 20,0±1,1% (p>0,05).

У хворих з поєднаною патологією спостерігалося пригнічення функціональної активності Т-лімфоцитів за даними РБТЛ з ФГА, показник якої знижувався в середньому в 1,4 разу — до 49,6±1,6% при нормі 69,5±2,3% (p<0,01): в основній групі — в 1,38 разу, у групі зіставлення — в 1,39 разу (p<0,001).

ВИСНОВКИ

Таким чином, при загостренні неалкогольного стеатогепатиту у хворих із поєднаною патологією спостерігалась Т-лімфопенія, зменшення кількості Т-хелперів/індукторів (CD4+-клітин) та імунорегуляторного індексу CD4/CD8 (Th/Ts), пригнічення функціональної активності Т-клітин за даними реакції бластної трансформації лімфоцитів з ФГА.

Надалі ми плануємо вивчити стан цитокінового профілю у хворих з неалкогольним стеатогепатитом у поєднанні з хронічним бронхітом на тлі ожиріння.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бабак О.Я. Решенные и нерешенные вопросы терапии неалкогольной жировой болезни печени в рамках метаболического синдрома / О.Я.Бабак, Е.В.Колесникова // Український терапевтичний журнал. — 2006. — №3. — С. 4-9.
2. Бессен Д.Г. Избыточный вес и ожирение / Д.Г.Бессен, Р.Кушнер. — М.: Бином, 2006. — 240 с.
3. Богомолов П.О. Неалкогольный стеатогепатит: патофизиология, патоморфология, клиника и подходы к лечению / П.О.Богомолов, Т.В.Павлова // Фарматека. — 2003. — №10. — С. 31-39.
4. Буеверов А.О. Некоторые патогенетические и клинические вопросы неалкогольного стеатогепати-

та / А.О.Буеверов, М.В.Маевская // Клинические перспективы в гастроэнтерологии, гепатологии. — 2003. — №3. — С. 2-7.
5. Использование микрометода для бласттрансформации лимфоцитов человека и животных / Е.П.Киселева, А.С.Цвейбах, Е.И.Гольдман, Н.В.Пигарева // Иммунология. — 1985. — №1. — С. 76-78.
6. Степанов Ю.М. Стеатоз печени и неалкогольный стеатогепатит: современный взгляд на патогенез, диагностику и лечение / Ю.М.Степанов, А.Ю.Філіпова // Здоров'я Ук-раїни. — 2004. — №18 (103). — С. 20-21
7. Унифицированные биохимические методы обследования больных: метод. рек. / Под. ред. Л.Л.Громашевской. — Киев: МЗ Украины, 1990. — 64 с.
8. Фадеенко Г.Д. Патофизиологические и молекулярные механизмы развития стеатоза и стеатогепатита / Г.Д.Фадеенко, Н.А.Кравченко, С.В.Виноградова // Сучасна гастроентерологія. — 2005. — №3. (23). — С.88-95.
9. 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.
10. Фролов В.М. Использование «иммунологического компаса» для диагностики иммунных нарушений / В.М.Фролов, Н.А.Пересадин, С.Е.Казакова // Клинич. лаборат. диагностика. — 1994. — №1. — С. 10-13.
11. Харченко Н.В. Современные взгляды на ожирение и подходы к его лечению / Н.В.Харченко, Г.А.Анохина // Сучасна гастроентерологія. — 2002. — №4. — С. 4-12.
12. Юнкеров В.И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований. 2-е изд., доп./ В.И.Юнкеров, С.Г.Григорьев. — СПб.: ВМедА, 2005. — 292 с.
13. Прудникова І.В. Показники клітинної ланки імунітету у хворих на неалкогольний стеатогепатит, сполучений з ожирінням / І.В.Прудникова // Український медичний альманах. — 2010. — Т. 13, №1. — С. 113-116.
14. Apoptosis peripheral of T lymphocytes in patients with acute exacerbration of chronic bronchitis / G.G.Xu, Q.Miu, J.R.He [et al.] // Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. — 2002. — Vol. 31 (2). — P. 125-126.
15. Cheung O. Recent advances in nonalcoholic fatty liver disease / O.Cheung, A.J.Sanyal // Curr. Opin. Gastroenterol. — 2009. — 25. — 230-237.
16. Lumeng C.N. Innate immune activation in obesity / C.N.Lumeng // Mol. Aspects Med. — 2013. — Vol. 34 (1). — P. 12-29.
17. Cargols D. Prevalence of maternal obesity in an urban center/ D.Cargols // N. Engl. J. Med. — 2007. — Vol. 32. — P. 677-685.
18. Pessayre P. Nonalcoholic steatohepatitis: potential causes and pathogenic mechanisms / P.Pessayre, A.Mansouri // Hepatol. — 2000. — Vol. 35 — P. 57-76.
19. Younossi Z. Non-alcoholic fatty liver disease: a review / Z.Younossi // Current Gastroenterology Reports. — 1999. — Vol. 1. — P. 57-62.

Л.Н.Иванова, К.К.Налапко. Состояние клеточного звена иммунитета у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом, сочетанным с хроническим бронхитом и ожирением. Луганск, Украина.

Ключевые слова: *неалкогольный стеатогепатит, хронический бронхит, ожирение, иммунитет.*

В статье приведены данные о состоянии клеточного звена иммунитета у больных с неалкогольный стеатогепатит, сочетанным с хроническим бронхитом и ожирением. Обнаружено, что при обострении неалкогольного стеатогепатита у больных с сочетанной патологией наблюдались иммунные расстройства в виде Т-лимфопении, уменьшения количества CD4 +-клеток и иммунорегуляторного индекса CD4/CD8, угнетения функциональной активности Т-клеток.

L.N.Ivanova, K.K.Nalapko. State of cellular immunity in patients with nonalcoholic steatohepatitis, combined with chronic bronchitis and obesity. Lugansk, Ukraine.

Key words: *non-alcoholic steatohepatitis, chronic bronchitis, obesity, immunity.*

The article presents the data about cellular immunity in patients with nonalcoholic steatohepatitis, combined with chronic bronchitis and obesity. It was found that during exacerbation of nonalcoholic steatohepatitis in patients with concomitant pathology immune disorders such as T-lymphopenia, reducing of amount of CD4+ cells and immunoregulatory index CD4/SD8, inhibition of functional activity of T-cells were observed.

Надійшла до редакції 30.01.2013 р.