

УДК 615.3:616.321-002.1-084
© Терьошин В.О., 2011

ЕФЕКТИВНІСТЬ ЦИКЛОФЕРОНУ ПРИ ЛІКУВАННІ ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНИЙ СТЕАТОГЕПАТИТ ТА ЙОГО ВПЛИВ НА ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ

Терьошин В.О.

ДЗ «Луганський державний медичний університет»

Вступ. За останні десятиріччя захворюваність на хронічну патологію печінки та жовчовивідних шляхів як в Україні, так і в інших країнах СНД суттєво зросла [1]. При цьому все більшу увагу дослідників привертає патологія печінки невірусного та неалкогольного генезу, а саме неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) [2]. Вважають, що в сучасних умовах НАСГ – це друге по частоті зустрічання хронічне дифузне ураження печінки після хронічних гепатитів вірусного генезу [3].

У патогенезі НАСГ та стеатозу печінки (СП) суттєву роль мають порушення з боку імунної системи [4]. При цьому у теперішній час існує концепція „двох поштовхів”, яка пояснює можливість трансформацію СП у НАСГ, виходячи з несприятливого впливу на гепатоцити захворювань, які супроводжуються розвитком оксидативного стресу та суттєвим підвищенням вмісту прозапальних цитокинів у сироватці крові [4]. Виходячи з істотної ролі імунних розладів в патогенезі насг, за минулі роки розроблений і впроваджений в клінічну практику комплекс засобів імюнокорекції і імюнореабілітації хворих в тому числі із застосуванням імюноактивних препаратів, з яких найбільш ефективним можна вважати циклоферон [4].

Тому доцільним є подальше дослідження особливостей лікувально-реабілітаційної дії і конкретних механізмів фармакологічної активності циклоферону при НАСГ, насамперед вплив даного препарату на клітинний імюнітет хворих.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами: робота виконувалася відповідно до основного плану науково-дослідних робіт (НДР) Луганського державного медичного університету і представляє фрагмент теми «Клініко-патогенетичні особливості, лікування та медична реабілітація хворих на неалкогольний стеатогепатит» (№ держреєстрації 0109U007770).

Метою роботи було вивчення ефективності циклоферону при лікуванні хворих на неалкогольний стеатогепатит та його вплив на показники клітинної ланки імюнітету.

Матеріали та методи дослідження. Під наглядом знаходилося 142 хворих на НАСГ. Серед

обстежених хворих з діагнозом НАСГ було 51 чоловік (35,9%) та 91 жінки (64,1%) переважно молодого та середнього віку (від 20 до 38 років). Клінічна картина захворювання була типовою та відповідала встановленим критеріям щодо даного діагнозу [5].

Для реалізації мети дослідження стосовно аналізу ефективності циклоферону та його впливу на імюнологічні показники було сформовано дві групи, рандомізовані за віком, статтю пацієнтів та вираженістю НАСГ – основна (80 осіб) та зіставлення (62 особи).

Обсяг імюнологічного дослідження включав визначення абсолютної та відносної кількості Т-(CD3+), В-лімфоцитів (CD22+), субпопуляцій Т-хелперів/індукторів (CD4+) та Т-супресорів/кілерів (CD8+) у цитотоксичному тесті [13] з моноклональними антитілами (МКАТ). У роботі використовувалися комерційні МКАТ класів CD3+, CD4+, CD8+ і CD22+ НВІЦ „МедБіоСпектр” (РФ – Москва). Функціональну активність Т-клітин оцінювали в реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) з використанням мікрометоду [7]. Статистичну обробку отриманих результатів дослідження здійснювали на персональному комп'ютері Intel Pentium III 800 за допомогою одно- і багатofакторного дисперсійного аналізу (пакети ліцензійних програм Microsoft Office 97, Microsoft Exel Stadia 6.1/prof та Statistica) [8], при цьому враховували основні принципи використання статистичних методів у клінічних випробуваннях [9].

Отримані результати та їхнє обговорення. Встановлено, що у більшості хворих виникають порушення з боку показників клітинної ланки імюнітету. Вказані імюнні порушення принципово характеризувались наявністю Т-лімфопенії різного ступеня вираженості та дисбалансу субпопуляційного складу Т-лімфоцитів, який переважно полягав у зменшенні числа CD4+-клітин (циркулюючих Т-хелперів/індукторів) на фоні помірного зниження числа Т-супресорів/кілерів (CD8+-лімфоцити), а вміст у крові В-клітин (CD22+) у більшості випадків мав лише незначну тенденцію до зниження (табл. 1).

Таблиця 1. Клітинні показники імюнітету у хворих на НАСГ 1до початку лікування (M±m)

Імюнологічні показники	Норма	Основна група (n=82)	Група зіставлення (n=60)	P
CD3+ , %	69,3±1,7	46,5±2,2**	47,5±2,1**	>0,1
Г/л	1,3±0,05	0,77±0,04***	0,76±0,03***	>0,05
CD4+ , %	45,3±1,3	24,8±1,8**	25,2±1,5*	>0,05
Г/л	0,85±0,03	0,41±0,03***	0,40±0,02***	>0,1
CD8+ , %	22,1±0,77	20,3±1,5*	20,9±0,9*	>0,05
Г/л	0,42±0,02	0,33±0,02**	0,33±0,01**	>0,1
CD4/CD8	2,05±0,06	1,22±0,03***	1,21±0,04***	>0,1
CD22+ , %	21,6±0,9	20,5±0,8	21,1±0,8	>0,05
Г/л	0,41±0,02	0,34±0,01*	0,35±0,01	>0,05
РБТЛ, %	65,5±2,2	36,5±2,0***	38,0±2,1***	>0,05

Примітка: ймовірність різниці відносно норми * - при P<0,05, ** - P<0,01, *** - P<0,001; у стовпчику P – ймовірність різниці між показниками в основній групі та групі зіставлення.

Зміни з боку клітинної ланки імунітету у таких хворих характеризувалися зниженням кількості циркулюючих у периферійній крові лімфоцитів з фенотипом CD3+ (Т-лімфопенією) в середньому до $0,77 \pm 0,04 \cdot 10^9/\text{л}$ при нормі $1,42 \pm 0,05 \cdot 10^9/\text{л}$ в абсолютному вирахованні ($P < 0,001$), що було менш за нормальні значення у 1,8 разів; і до $47,0 \pm 2,2\%$ при нормі $75,5 \pm 1,7\%$ у відносному вирахованні ($P < 0,01$), що було менш норми у 1,6 разів. Крім того, мав місце дисбаланс субпопуляційного складу Т-лімфоцитів, переважно за рахунок зниження числа лімфоцитів з фенотипом CD4+, які характеризуються хелперною активністю у більшості спостережених хворих як основної групи, так і групи зіставлення. При цьому число Т-лімфоцитів з фенотипом CD4+ складало у середньому $25,0 \pm 1,8\%$ (при нормі $45,3 \pm 1,3\%$; $P < 0,01$), або $0,41 \pm 0,03 \cdot 10^9/\text{л}$ (при нормі $0,85 \pm 0,03 \cdot 10^9/\text{л}$; $P < 0,001$), що було менш нормальних значень в 1,8 та 2 рази у відносному та абсолютному вирахованні відповідно. Число Т-супресорів/кілерів (Т-клітини з фенотипом CD8+) у обстежених хворих на НАСГ, складало $0,33 \pm 0,02 \cdot 10^9/\text{л}$ (при нормі $0,42 \pm 0,02 \cdot 10^9/\text{л}$; $P < 0,01$) в абсолютному та $20,6 \pm 1,3\%$ (при нормі $22,1 \pm 0,77\%$; $P < 0,05$) у відносному вирахованні. У зв'язку з цим імунорегуляторний індекс CD4/CD8 (Th/Ts) у більшості обстежених на НАСГ мав чітку тенденцію до зниження, складаючи у середньому $1,22 \pm 0,03$ (при нормі $2,05 \pm 0,06$; $P < 0,001$). Рівень В-лімфоцитів змінювався незначно. Так, кількість клітин з фенотипом CD22+ була помірно знижена

в основній групі хворих (у середньому на $17,1\%$ відносно норми) і становила $20,5 \pm 0,8\%$, а у пацієнтів з групи зіставлення – $21,1 \pm 0,8\%$.

При визначенні показників клітинного імунітету, окрім кількісної оцінки вмісту основних популяцій та субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів, була проаналізована також функціональна активність макрофагальної ланки. Показник РБТЛ, який відображає функціональну активність Т-лімфоцитів, до початку лікування в основній групі був в середньому в 1,79 рази нижче норми ($36,5 \pm 2,0\%$; $P < 0,001$) та в групі зіставлення – в 1,72 рази нижче норми ($38,0 \pm 2,1\%$; $P < 0,001$) при нормі $65,5 \pm 2,2\%$. Таким чином, у всіх хворих, що були під наглядом, які страждають на НАСГ до початку проведення лікування виявляється вторинний імунодефіцитний стан за відносним супресорним варіантом, що потребує відповідної корекції.

При повторному імунологічному обстеженні після завершення лікування із включенням циклоферону було встановлено, що в основній групі хворих на НАСГ, в повній мірі реалізувався імуномодулюючий ефект цього препарату, що сприяло нормалізації вивчених імунологічних показників. Дійсно, в основній групі хворих на НАСГ, (які отримували циклоферон) відмічалася більш значна позитивна динаміка вивчених імунологічних показників. При цьому мали місце чітка тенденція до ліквідації Т-лімфопенії, підвищення кількості циркулюючих Т-хелперів/індукторів (CD4+), нормалізація співвідношення CD4/CD8 (табл. 2).

Таблиця 2. Клітинні показники імунітету в обстежених хворих на НАСГ після завершення лікування (M±m)

Імунологічні показники	Норма	Основна група (n=82)	Група зіставлення (n=60)	P
CD3+, %	$69,3 \pm 1,7$	$68,5 \pm 2,1^{**}$	$54,9 \pm 1,8^*$	$< 0,05$
Г/л	$1,3 \pm 0,05$	$1,23 \pm 0,04^{***}$	$0,95 \pm 0,4^*$	$< 0,01$
CD4+, %	$45,3 \pm 1,3$	$43,5 \pm 1,6^{***}$	$35,5 \pm 1,4^*$	$< 0,01$
Г/л	$0,85 \pm 0,03$	$0,78 \pm 0,03^{***}$	$0,63 \pm 0,02^*$	$< 0,001$
CD8+, %	$22,1 \pm 0,77$	$22,9 \pm 1,0$	$21,8 \pm 0,6$	$> 0,1$
Г/л	$0,42 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,02$	$0,39 \pm 0,01$	$< 0,05$
CD4/CD8	$2,05 \pm 0,06$	$1,91 \pm 0,03$	$1,63 \pm 0,04$	$< 0,05$
CD22+ %	$21,6 \pm 0,9$	$21,5 \pm 0,8$	$21,3 \pm 0,9$	$> 0,1$
Г/л	$0,41 \pm 0,02$	$0,39 \pm 0,01$	$0,36 \pm 0,02$	$> 0,05$
РБТЛ %	$65,5 \pm 2,2$	$60,1 \pm 2,1$	$42,5 \pm 2,3^{***}$	$< 0,01$

Як свідчать дані, наведені в таблиці, кратність зростання кількості загальної популяції Т-лімфоцитів після завершення лікування хворих на НАСГ, у хворих групи зіставлення складала 1,25 рази ($P < 0,05$), в той час як в основній групі – 1,6 рази (що дорівнювало $1,23 \pm 0,04 \cdot 10^9/\text{л}$ в абсолютному вирахованні; $P < 0,001$ та $68,5 \pm 2,1\%$ - у відносному; $P < 0,01$). Поряд з чіткою тенденцією до ліквідації Т-лімфопенії, вже з перших днів застосування циклоферону при лікуванні хворих із НАСГ нами було відмічено істотне зростання кількості Т-хелперів/індукторів. При цьому даний показник склав $0,78 \pm 0,03 \cdot 10^9/\text{л}$ в абсолютному ($P < 0,001$) та $43,5 \pm 1,6\%$ - у відносному ($P < 0,001$) вирахованні, тоді як у групі зіставлення $0,63 \pm 0,02 \cdot 10^9/\text{л}$ та $35,5 \pm 1,4\%$ відповідно ($P < 0,05$). Число клітин з фенотипом CD8+ у хворих основної групи після завершення лікування із застосуванням циклоферону складало $0,41 \pm 0,02 \cdot 10^9/\text{л}$ (при показнику у групі зіставлення $0,39 \pm 0,01 \cdot 10^9/\text{л}$) в абсолютному та $22,9 \pm 1,0\%$ (у групі зіставлення - $21,8 \pm 0,6\%$) - у відносному вирахованні. Простежується більш позитивна динаміка з боку Т-лімфоцитів у хворих основної групи, які приймали циклоферон у комплексі

лікування НАСГ. Відзеркаленням цього було зростання імунорегуляторного індексу CD4/CD8 у середньому в 1,6 рази (що склало $1,9 \pm 0,03$; $P < 0,001$), тоді як у групі зіставлення значення даного індексу зростало менш значно - в 1,4 рази ($P < 0,05$).

Показово, що тривалість збереження імуномодулюючої активності циклоферону складає у більшості обстежених 4 місяці та навіть більше, що дає можливість використовувати повторні курси лікування за допомогою циклоферону 3 – 4 рази на рік та забезпечувати при цьому стабілізацію хронічного патологічного процесу у печінці та профілактику загострень НАСГ. Виходячи з цього, можна рекомендувати використання циклоферону в комплексі лікування хворих з НАСГ.

Висновки:

1. До початку проведення лікування у хворих з НАСГ відмічалися суттєво виражені порушення з боку показників клітинної ланки імунітету, які характеризувалися наявністю Т-лімфопенії різного ступеня вираженості, дисбалансу субпопуляційного складу Т-лімфоцитів, який переважно полягав у зменшенні числа CD4+-клітин (циркулюючих

Т-хелперів/індукторів) на фоні помірного зниження числа Т-супресорів/кілерів (CD8⁺-лімфоцити), у той час як вміст у крові В-клітин (CD22⁺) у більшості випадків мав лише незначну тенденцію до зниження. За даними РБТЛ з ФГА у більшості обстежених мало місце суттєве зниження функціональної активності Т-клітин.

2. Включення до комплексу лікування хворих з НАСГ циклоферону сприяє відновленню імунологічного гомеостазу, а саме ліквідації Т-

лімфопенії, нормалізації субпопуляційного складу Т-лімфоцитів, підвищенню функціональної активності Т-клітин, що свідчить про покращення імунологічних показників, які характеризують клітинну ланку імунної відповіді та тенденції до відновлення імунологічного гомеостазу.

3. Виходячи з отриманих даних, можна вважати патогенетично обґрунтованим, доцільним та клінічно перспективним використання препарату циклоферону в комплексі лікування осіб з НАСГ.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Болезни печени и желчевыводящих путей / Под ред. **В.Т. Ивашкина**. — М.: Мед. вести, 2002. — 416 с.
2. **Голубчиков М.В.** Статистичний огляд захворювання населення України на хвороби печінки та жовчовивідних шляхів / М.В. Голубчиков // Сучасна гастроентерологія і гепатологія. — 2000. — №2. — С. 53 — 85.
3. **Ивашкин В.Т.** Неалкогольный стеатогепатит / В.Т. Ивашкин, Ю.О. Шупельникова // Болезни органов пищеварения. — 2003. — №2. — С. 41 — 45.
4. Использование микрометода для бласттрансформации лимфоцитов человека и животных / **Киселева Е.П., Цвейбах А.С., Гольдман Е.И., Пигарева Н.В.** // Иммунология. — 1985. — № 1. — С.76-78.
5. **Лапач С.Н.** Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / **Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н.** — Киев: Морион, 2000. — 320 с.
6. **Лапач С.Н.** Основные принципы применения статистических методов в клинических испытаниях / Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. — Киев: МОРИОН, 2002. — 160 с.
7. **Степанов Ю.М.** Современные взгляды на патогенез, диагностику и лечение неалкогольного стеатогепатита / Степанов Ю.М., Филиппова Ф.Ю. // Сучасна гастроентерологія. — 2008. — № 3. — С. 18-24.
8. Унифицированные биохимические методы обследования больных: метод. рекомендации // Под ред. **Л.Л. Громашевской**. — Киев: МЗ Украины, 1990. — 64 с.
9. **Фадеев Г.Д.** Факторы транскрипции и молекулярные медиаторы стеатоза печени / Г.Д. Фадеев, Н.А. Кравченко // Український терапевтичний журнал. — 2005. — №1. — С. 100 — 106.
10. **Фадеев Г.Д.** Стеатогепатит. Биохимические маркеры и проблемы диагностики / Г.Д. Фадеев, Н.А. Кравченко // Сучасна гастроентерологія. — 2006. — № 1. — С. 8 — 13.
11. **Філіппов Ю.О.** Основные показатели гастроентерологической заболеваемости в Украине / Ю.О. Філіппов, І.Ю. Скірда, Л.М. Петречук // Гастроентерологія: міжвід. зб. — Дніпропетровськ, 2006. — Вип. 37. — С. 3 — 9.
12. **Фролов В.М.** Моноклональные антитела в изучении показателей клеточного иммунитета у больных / Фролов В.М., Пересадин Н.А., Баскаков И.Н. // Лабораторное дело. — 1989. — № 6. — С. 71-72.
13. **Шерлок Ш., Дули Дж.** Заболевания печени и желчных путей: Пер. с англ. / Под ред. З.Г. Оприсиной, Н.А. Мухина. — М.: Гэотар Медицина, 2002. — 864 с.
14. **Bacon B.R.** Nonalcoholic steatohepatitis: expanded clinical entity / Bacon B.R., Farahvash M.J., Janney C.G. // Gastroenterol. — 1994. — Vol. 107. — P. 1103 — 1109.
15. **Brunt E.M.** Non-alcoholic steatohepatitis definition and pathology / Brunt E.M // Sem. Liv. Dis. — 2001. — Vol. 21. — P. 3 — 16.
16. **Charlton M.** Nonalcoholic steatohepatitis - sometimes is more / Charlton M. // Congress of gastroenterology & Hepatology, 2001. — P. 283 — 289.
17. **Day C.P.** Steatohepatitis: a tale of two «hits»? / Day C.P., James O.F.W. // Gastroenterology. — 1998. — Vol. 114. — P. 842 — 845.
18. **Day C.P.** The genetic basis for non-alcoholic and alcoholic steatohepatitis / In: Leuschner U., James O.F.W., Dancygier H. (eds). Steatohepatitis (NASH and ASH).- Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2001. — P. 43 — 52.
19. **Perez-Carreras M.** Defective hepatic mitochondrial respiratory chain in patients with nonalcoholic steatohepatitis / Perez-Carreras M. // Hepatology. — 2003. — Vol. 38.— P. 999—1007.
20. **Pessayre P.** Nonalcoholic steatohepatitis: potential causes and pathogenic mechanism / Pessayre P., Mansouri A., Fromenty B. // Hepatol.- 2000.- P. 57-76.

Терещин В.О. Вплив сучасного імуноактивного препарату циклоферону на показники клітинного імунітету у хворих на неалкогольний стеатогепатит // Український медичний альманах. — 2011. — Том 14, № 4. — С. 197-199.

У даній роботі наведено теоретичне узагальнення та практичне вирішення актуальної наукової задачі в галузі внутрішніх хвороб — підвищення ефективності діагностики та лікування патології гепато-біліарної системи. Використання імуноактивного препарату — циклоферону в комплексній терапії неалкогольного стеатогепатиту в фазі помірного загострення або нестійкої ремісії можна вважати доцільним та перспективним, тому що поряд з покращенням клінічних показників він сприяє ліквідації Т-лімфопенії, нормалізації співвідношення між хелпером та супресором субпопуляціями Т-лімфоцитів, тобто імунорегуляторного індексу, та обумовлює підвищення показника РБТЛ.

Ключові слова: неалкогольний стеатогепатит, клітинний імунітет, циклоферон, лікування.

Терещин В.А. Влияние современного иммуноактивного препарата циклоферона на показатели клеточного иммунитета больных неалкогольным стеатогепатитом // Український медичний альманах. — 2011. — Том 14, № 4. — С.197-199.

В данной работе приведено теоретическое обобщение практическое решение актуальной научной задачи в области внутренних болезней — повышение эффективности диагностики и лечения патологии гепато-билиарной системы. Использование иммуноактивного препарата — циклоферона в комплексной терапии неалкогольного стеатогепатита в фазе умеренного обострения или нестойкой ремиссии можно считать обоснованным и перспективным, так как на ряду с улучшением клинических показателей способствует ликвидации Т-лимфопении, нормализации соотношения между хелперной и супрессорной субпопуляциями Т-лимфоцитов.

Ключевые слова: неалкогольный стеатогепатит, клеточный иммунитет, циклоферон, лечение.

Tereshin V.O. Influence of modern immunoactive preparation nucleinas on cellular immunity at the patients with nonalcoholic steatohepatitis // Український медичний альманах. — 2011. — Том 14, № 4. — С. 197-199.

At article was resulted theoretical generalization and practical decision of actual scientific task at of internal illnesses area such as increase of diagnostics and treatment pathology of the hepatobiliary system efficiency. Application immunoactive preparation — cycloferon in complex therapy of nonalcoholic steatohepatitis in the phase of the moderate intensifying or unstable remission of to consider grounded and perspective, because on a row with clinical indexes he is instrumental in liquidation of T-lymphopenia, normalizations of correlation of міжду T-cell helper and suppressor subpopulation.

Key words: nonalcoholic steatohepatitis, cellular immunity, cycloferon, treatment.

Надійшла 12.06.2011 р.
Рецензент: проф. І.В.Лоскутова