

УДК 616.345.566-344.52:616.567-957.345-02
 © Єлізарова Т.О., Кузнєцова Л.В., 2010

ПОКАЗНИКИ ФАГОЦИТАРНОЇ АКТИВНОСТІ МОНОЦИТІВ У ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНИЙ СТЕАТОГЕПАТИТ

Єлізарова Т.О., Кузнєцова Л.В.

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

Єлізарова Т.О., Кузнєцова Л.В. Показники фагоцитарної активності моноцитів у хворих на неалкогольний стеатогепатит // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, № 4. – С. 64-66.

У хворих на неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) встановлені порушення з боку макрофагальної фагоцитуючої системи (МФС), а саме зниження показників фагоцитарної активності макрофагів/моноцитів (ФАМ) – фагоцитарного індексу, фагоцитарного числа, індекса перетравлення, індекса атракції. Проведення лікування загальноприйнятими засобами у цих хворих на НАСГ не забезпечує повного відновлення функціонального стану МФС, оскільки показники ФАМ залишаються вірогідно зниженими стовно норми.

Ключові слова: неалкогольний стеатогепатит, макрофагальна фагоцитуюча система, патогенез.

Єлізарова Т.А., Кузнєцова Л.В. Показатели фагоцитарной активности у больных неалкогольным стеатогепатитом // Украинский морфологический альманах. – 2010. – Том 8, № 4. – С. 64-66.

У больных неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ) установлены нарушения со стороны макрофагальной фагоцитирующей системы (МФС), а именно снижение показателей фагоцитарной активности макрофагов / моноцитов ФАМ— фагоцитарного индекса, фагоцитарного числа, индекса переваривания, индекса аттракции. Проведение лечения общепринятыми методами больных НАСГ не обеспечивает полноценного восстановления функционального состояния МФС, поскольку показатели ФАМ остаются достоверно сниженными относительно нормы.

Ключевые слова: неалкогольный стеатогепатит, макрофагальная фагоцитирующая система, патогенез.

Elisarova T.O., Kuznetsova L.V. Parameters of macrophagal phagocytic system at the patients with nonalcoholic steatohepatitis // Украинский морфологический альманах. – 2010. – Том 8, № 4. – С. 64-66.

At the patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH) establishes infringements on the macrophagal phagocytic system (MPS), namely reduction parameters activity of macrophages phagocytic – FAM / monocyte (phagocytes index, phagocytes number, index of digestion, index of attraction). Carrying out the treatment by the standard methods at these patients does not provide high-grade restoration of functional condition MPS, including parameters FAM remain essentially distinct from norm.

Key words: nonalcoholic steatohepatitis, macrophagal phagocytic system, pathogenesis.

Вступ. Ріст захворюваності на хронічні захворювання печінки в Україні, інших країнах СНД, та в цілому у світі [11, 17], викликає велику стурбованість не тільки в медичних колах, але серед суспільства в цілому, бо має велику соціальну значущість, а саме збільшення інвалідації та скорочення терміну життя. За результатами клініко-епідеміологічних досліджень, на сьогодні серед хронічної патології печінки, неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) займає лідируюче місце, поступаючись за розповсюдженістю лише хронічним вірусним гепатитам [2, 11, 20]. За статистичними даними останніх років на НАСГ страждає від 17 до 33% дорослого населення економічно розвинутих країн [3, 21]. Клінічні дослідження дозволили встановити, що частіше НАСГ перебігає відносно доброякісно, однак у деяких випадках, особливо при прогресуванні хронічного патологічного процесу у печінці, може виникати загроза розвитку фіброзу та навіть цирозу цього органу [14-16]. Відомо, що в патогенезі НАСГ суттєве значення мають порушення метаболічного гомеостазу на молекулярному рівні [3, 15, 16, 22]. За останні роки увага дослідників також спрямована на виявлення змін з боку клітинної ланки імунітету у хворих на НАСГ [19, 21]. Зважаючи на важливу роль у патогенезі хронічних захворювань гепатобілярної системи порушень функціональної активності макрофагальної фагоцитуючої системи (МФС) [1, 4, 7] та тісний взаємозв'язок стану МФС з іншими показниками клітинної ланки імунітету [8, 19] можна вважати доцільним вивчення функціонального стану системи фагоцитуючих моноцитів/макрофагів у хворих на НАСГ, що надасть можливість для розробки раціональних, патогенетично обґрунтованих підходів до корекції виявлених порушень, та імунореабілітації в цілому [5, 19].

Зв'язок роботи з науковими програмами планами, темами: робота виконувалась відповідно з основним планом науково-дослідних робіт (НДР) Національної медичної академії післядипломної

освіти ім. П.Л. Шупика і являє собою фрагмент теми НДР «Іммунопатогенез неалкогольного стеатогепатиту, імюнокорекція та імюнокреабілітація хворих» (№ держреєстрації 0110U005265).

Метою роботи було вивчення функціонального стану макрофагальної/моноцитарної фагоцитуючої системи у хворих на НАСГ.

Матеріали та методи. Обстежено було 34 хворих на НАСГ, що знаходилися на лікуванні у денному гепатологічному відділенні. Вік пацієнтів складав від 30 до 59 років, серед обстежених було 18 чоловіків (52,9%) та 16 жінок (47,1%). Діагноз НАСГ встановлен у відповідності до стандартизованих протоколів діагностики та лікування хвороб органів травлення, на підставі даних анамнезу, клінічного та інструментального (ультразвукове дослідження органів черевної порожнини) обстеження, з обов'язковим урахуванням даних загальноприйнятих біохімічних показників, які характеризують функціональний стан печінки [12]. Для виключення вірусного ураження печінки було проведено дослідження сироватки крові обстежених на маркери вірусних гепатитів (ВГ) ВГВ, ВГС та ВГД за допомогою метода ІФА. При наявності маркерів ВГ у крові, ці хворі були виключені з подальшого дослідження.

Всі хворі групи дослідження отримували загальноприйняте лікування НАСГ, яке включало дієтичне харчування та медикаментозне лікування, а саме гепаторектори рослинного походження з роторопіши плямистої(карсіл або сілібор), есенціальні фосфоліпіді (переважно есенціале Н), аскорутін, полівітаміни [12, 14]. Лікування обстежених хворих здійснювали у відповідності до Стандартизованих протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Гастроентерологія» (Наказ МОЗ України № 271 від 13.06.2005 р.).

Загальноприйняті лабораторні методи дослідження включали клінічний аналіз крові і сечі, аналіз крові на цукор. 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, рівня альбуміну, активності екскреторних ферментів – лужної фосфатази (ЛФ) та гамаглутамілтранспептидази (ГТП); показники тимолової проби. При цьому функціональні проби печінки визначалися в динаміці лікування та оцінювалися в комплексі з клінічними даними.

Спеціальне імунологічне дослідження включало вивчення стану МФС шляхом аналізу фагоцитарної активності моноцитів (ФАМ) периферійної крові. Дослідження ФАМ здійснювали чапечковим методом [18]; при цьому в якості тест-об'єкту використовували живу добову культуру *Staph. Aureus*, штам 505, який було отримано з Інституту Пастера (СПБ). Підраховували наступні показники ФАМ: фагоцитарне число (ФЧ) – кількість поглинутих бактеріальних клітин на 1 моноцит, фагоцитарний індекс (ФІ) – відсоток моноцитів, які приймають участь у фагоцитарній реакції, індекс перетравлення (ІП) – відсоток перетравлених мікробних клітин від загального їх числа, поглинутих 100 моноцитами та індекс атракції (ІА) – число мікробних клітин, фіксованих на 100 моноцитах [18]. При цьому особливу увагу приділяли визначенню ступеня перетравлення поглинутих мікроорганізмів [10].

Клініко-біохімічні та імунологічні дослідження хворих на НАСГ, проводилися в динаміці. Перше обстеження здійснювалось, як правило, в період загострення НАСГ (до початку лікування), друге – після досягнення клініко-біохімічної ремісії, тобто після завершення основного курсу терапії, що проводилася, як правило, на 20-21 день з початку лікування.

Таблиця. Динаміка ФАМ в обстежених хворих на НАСГ ($M \pm m$)

Показники ФАМ	Норма	Група хворих (n=34)		P
		до лікування	після лікування	
ФІ, %	28,6±0,8	18,0±0,8***	23,6±0,6*	<0,05
ФЧ	4,0±0,16	2,2±0,08***	3,2±0,06*	<0,05
ІА, %	16,9±0,6	11,0±0,09**	14,1±0,05*	<0,05
ІП, %	26,5±0,9	16,7±0,26***	21,3±0,25*	<0,05

Примітки: вірогідність різниці відносно норми * - при $P < 0,05$, ** - при $P < 0,01$, *** - при $P < 0,001$; стовпчик P – вірогідність розбіжностей між показниками до лікування та після лікування.

Дійсно, зниження усіх вивчених показників ФАМ мало місце у всіх обстежених нами пацієнтів з НАСГ. Так, ФІ був знижений у середньому в 1,6 рази відносно норми та становив $(18,0 \pm 0,8)\%$; ($P < 0,001$), ФЧ у цей період дослідження було знижено в 1,8 рази та складало $(2,2 \pm 0,08)\%$; ($P < 0,001$). Показник ІА в групі обстежених хворих був в середньому в 1,53 рази нижче норми і сягав значення $(11,0 \pm 0,09)\%$; ($P < 0,01$), ІП складав $(16,7 \pm 0,26)\%$, що було нижче норми в 1,6 рази ($P < 0,001$). Отже, у обстежених хворих на НАСГ мало місце суттєве зниження усіх проаналізованих фагоцитарних показників, в тому числі ІП. Таке суттєве зниження ІП у обстежених пацієнтів свідчить про недостатню ефективність механізмів фагоцитарної реакції МФС, тобто про незавершеність процесів фагоцитозу [6, 10]. Функціональний стан МФС у хворих на НАСГ, після курсу лікування загальноприйнятими засобами мав деяку позитивну динаміку (рисунок). Дійсно, показник ФІ дещо підвищився, та становив $(23,6 \pm 0,9)$, що було в 1,31 рази вище за вихідний рівень, але в той же час залишився нижче норми в 1,21 рази ($P < 0,05$), ФЧ

Отримані цифрові дані обробляли математично за допомогою стандартних пакетів прикладних програм (Microsoft® Windows® Professional, Microsoft® Office 2007, Statistica 6,0) на персональному комп'ютері Intel Core Duo 2,0 GHz, при цьому враховували основні принципи використання статистичних методів у медико-біологічних дослідженнях [9].

Результати та їх обговорення. У клінічному плані НАСГ у обстежених хворих мав типовий клінічний перебіг та характеризувався наявністю синдрому «правого підребір'я», що проявлявся тяжкістю або болем в правому підребір'ї, який мав тупий, ниючий характер, диспептичним синдромом, а саме гіркотою або металевим присмаком у роті, нудотою, порушеннями стільця переважно у вигляді закріпів, а також проявами астеничного або астено-невротичного характеру, тобто загальною слабкістю, порушеннями сну (сонливість удень та безсоння вночі), нездужанням, дифузним головним болем, емоційною лабільністю. Біохімічні показники, що характеризують стан печінки, характеризувалися в обстежених хворих помірно. гіпербілірубінемією (в межах 27,5-36,8 мкмоль/л), збільшенням вмісту в сироватці крові фракції зв'язаного білірубину (від 5,9 до 13,8 мкмоль/л), гіпертрансферемією у вигляді збільшення активності АлАТ до $(1,1-2,12)$ ммоль/г л та АсАт до $(0,85-1,92)$ ммоль/г, підвищення показника тимолової проби (в межах 5,5-7,6 од.). У 14 хворих (41,2%) відмічалася, також, помірне підвищення активності ферментів – ЛФ та ГТП, що свідчило про наявність в них часткового внутрішньопечінкового холестазу.

При проведенні імунологічного обстеження було встановлено, що у всіх хворих на НАСГ групи спостереження показники ФАМ до початку лікування були суттєво знижені стосовно щодо норми (таблиця).

зросло до $(3,2 \pm 0,06)$, тобто в 1,45 рази стосовно вихідного рівня ($P < 0,01$), але залишилося в 1,25 разів нижче норми ($P < 0,05$). Показник ІА в після завершення лікування становив $(14,1 \pm 0,05)\%$, тобто його рівень зріс відносно вихідного значення в 1,28 рази, але в той же час був в 1,2 рази нижче норми ($P < 0,05$). ІП більш суттєву позитивну динаміку – збільшився в ході лікування в 1,28 рази і становив $(21,3 \pm 0,25)\%$ але при цьому залишився в 1,24 рази нижче відповідної показника норми ($P < 0,05$). В клінічному плані у більшості хворих залишилися скарги переважно диспептичного та астеничного характеру, що свідчило про нестійку ремісію захворювання.

Отримані дані свідчать про суттєву значущість порушень ФАМ у патогенезі НАСГ. Оскільки показники ФАМ досить чітко характеризують функціональний стан МФС у цілому [6, 18], отримані дані дозволяють рахувати, що у хворих на НАСГ, мають місце суттєві розлади з боку МФС. Зниження функціональної активності МФС, ймовірно, може сприяти розвитку чергового загострення НАСГ та

внаслідок цього, прогресуванню цієї хронічної хвороби печінки. Тому є доцільним вивчення ефективності включення до комплексу лікування хворих на НАСГ, сучасних імуноактивних препаратів, які спроможні нормалізувати активність МФС.

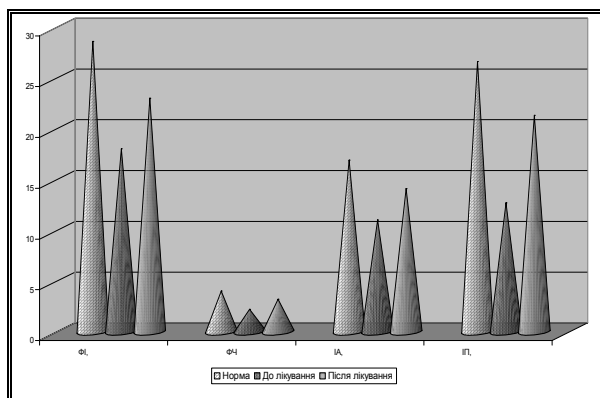


Рисунок. Динаміка ФАМ в обстежених хворих на НАСГ.

Висновки:

1. Для хворих на НАСГ в клінічному плані характерна наявність синдрому «правого підреб'я», що проявляється тяжкістю або болем в правому підреб'ї, диспептичним симптомокомплексом (гіркота або металевий присмаком у роті, нудота, порушеннями стільця переважно у вигляді закретів), а також проявами астеничного або астено-невротичного характеру (загальної слабкості, порушеннями сну, незуданням, дифузним головним болем, емоційною лабільністю).

2. У обстежених хворих на НАСГ мало місце суттєве пониження усіх вивчених фагоцитарних показників моноцитів/макрофагів, в тому числі ІІ. Таке суттєве зниження ІІ у обстежених пацієнтів свідчить про недостатню ефективність механізмів фагоцитарної реакції МФС, тобто про незавершеність процесів фагоцитозу.

3. Стан хворих на НАСГ, після курсу лікування загальноприйнятими методами депо покращився, але отримані дані свідчили про наявність нестійкої ремісії хвороби.

4. Проведення лікування загальноприйнятими засобами у хворих на НАСГ оказує деякий позитивний вплив на проаналізовані імунологічні показники, що характеризують ФАМ, але повноцінного відновлення функціонального стану МФС при цьому не відбувається, оскільки вивчені показники ФАМ залишаються вірогідно менше їхніх нормальних значень.

5. Вважаємо, що в подальшому доцільним є вивчення ефективності включення до комплексу лікування хворих на НАСГ сучасних імуноактивних препаратів, з метою імунокорекції імунного гомеостазу, та поперед усього стану МФС, що буде сприяти зменшенню імовірності подальшого прогресування хронічного дифузного ураження печінки.

ЛІТЕРАТУРА:

- Алешина Р.М. Синдром вторичної імунної недостаточності: клініко-лабораторна характеристика / Р.М.Алешина // Клінічна імунологія, алергологія, інфектологія. – 2007. - № 2 (7). – С. 17 – 23.
- Бабак О.Я. Хронічні гепатити / О.Я. Бабак. – Киев: Блиц-Інформ, 1999. – 208 с.
- Бабак О.Я. Причини і метаболічні наслідки неалкогольної жирової хвороби печінки / О.Я.

Бабак // Сучасна гастроентерологія. – 2010. – № 4 (54). – С. 8-16.

- Бережная Н.М. Иммунологические исследования в клинике: состояние и перспективы / Н.М. Бережная // Иммунология. – 2006. – № 1. – С. 18-23.
- Бережная Н.М. Стратегия выбора методов иммунологических исследований в клинике и подходы к иммуно-реабилитации системы иммунитета / Н.М. Бережная // Иммунология та алергологія. – 1998. – № 1. – С. 35 – 46.
- Векслер Х.М. Принципы современных подходов к изучению функционального состояния макрофагов в клинической практике / Х.М. Векслер, Я.Д. Кейш // Иммунологический гомеостаз и иммунорегулирующая терапия. – Рига: Зинатне, 1989. – С. 11 – 18.
- Зубова С.Г. Молекулярные механизмы действия фактора некроза опухоли α и трансформирующего фактора роста β в процессе ответа макрофага на активацию / С.Г.Зубова, Б.В. Окулов //Иммунология. – 2001. - № 5. – С. 18-2
- Клиническая иммунология и алергология / под ред. Г. Лолора, Т. Фишера и Д. Адельмана: пер. с англ. – М.: Практика, 2000. – 806 с.
- Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Морин, 2000. – 320 с.
- Медведев А.Н. Способ исследования поглотительной фазы фагоцитоза / А.Н. Медведев, В.В. Чаленко // Врачебное дело. – 1991. – № 2. – С.18-19.
- Москаленко В.Ф. Заболевания гепатобиллярной системы (распространенность, нерешенные проблемы) / В.Ф. Москаленко, М.В. Голубчиков: зб. наук. праць співроб. КМАПО ім. Шул'яка. – 2000. – Вип. 9, Кн. 4. – С. 5-10.
- Стандартизовані протоколи діагностики та лікування хвороб органів травлення: методичні рекомендації / Н.В. Харченко, Г.А. Анохіна, Н.Д. Опанасюк [та інші.]. – Київ, 2005. – 56 с.
- Унифицированные биохимические методы обследования больных: метод. рекомендации // Под. ред. Л.Л. Громашевской. – Киев: МЗ Украины, 1990. – 64 с.
- 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.
- Фадеев Г.Д. Стеатогепатит. Биохимические маркеры и проблемы диагностики / Г.Д. Фадеев, Н.А. Кравченко // Суч. гастроентерологія.– 2006.– №1.– С. 8–13.
- Фадеев Г.Д. Факторы транскрипции и молекулярные медиаторы стеатоза печени / Г.Д. Фадеев, Н.А. Кравченко // Український терапевтичний журнал. - 2005. - №1. - С. 100-106.
- Філіппов Ю.О. Основні показники гастроентерологічної захворюваності в Україні / Ю.О. Філіппов, І.Ю. Скірда, А.М. Петручак // Гастроентерологія: міжвід. зб. – Дніпропетровськ, 2006. – Вип. 37. – С. 3
- Фролов В.М. Определение фагоцитарной активности моноцитов периферической крови у больных / В.М. Фролов, Н.А. Пересадин, И.Я. Пшеничный // Лабораторное дело. – 1990. – № 9. – С. 27-29.
- Abbas A.K. Cellular and molecular immunology / A. K. Abbas, A.H. Lichtman // Philadelphia: Saunders, 2003.– 26.
- Adams L.A. Nonalcoholic fatty liver disease / L.A. Adams, P. Angulo, D. Lu, K. Undor – 2005. – Vol. 172. – P. 899 – 905.
- Brunt E.M. Non-alcoholic steatohepatitis definition and pathology / E.M. Brunt // Sem. Liv. Dis. – 2001. – Vol. 21. – P. 3 – 16.
- Jeffrey D. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury / D. Jeffrey, J. Browning, D. Horton // Clin Invest. – 2004. – Vol. 114, №2. – P. 147 – 152.

Надійшла 01.10.2010 р.
Рецензент: проф. І.В.Лоскутова