

## ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ЦИТОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ У ХВОРИХ ІЗ ПОЄДНАНОЮ ПАТОЛОГІЄЮ

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», м. Ужгород, Україна

**Мета** – вивчити зміни показників цитокінового профілю у хворих з поєднаною патологією – хронічним гепатитом С і цукровим діабетом 2-го типу.

**Матеріали та методи.** Обстежено 400 хворих: основна група – 125 хворих на цукровий діабет 2-го типу з хронічним гепатитом С; група порівняння – 275 хворих на цукровий діабет 2-го типу без хронічного гепатиту С.

**Результати.** У хворих основної групи встановлено підвищення рівня ІЛ-1 $\beta$  у 2,9 разу та ІЛ-2 більше ніж у 7 разів, а в групі порівняння – в 1,7 та 1,5 разу відповідно порівняно з групою контролю. Високі рівні ФНП- $\alpha$  у обох групах не виявили достовірної різниці між ними ( $p > 0,05$ ), що засвідчило активну роль даного цитокіну в прогресуванні печінкового ушкодження незалежно від етіологічного чинника. У хворих основної групи частіше, ніж у групі порівняння, спостерігався прогресуючий перебіг ангіопатій.

**Висновки.** У хворих із поєднаною патологією печінки цитокіновий профіль характеризується вираженим підвищенням рівнів ІЛ-1 $\beta$  і ІЛ-2.

**Ключові слова:** цукровий діабет 2-го типу, хронічний гепатит С, цитокіни.

### Вступ

Дані багатьох досліджень про патогенез гепатитів і фіброгенез свідчать, що пошкодження печінки завжди супроводжується дисфункцією імунної системи [7]. Основою розвитку імунологічних реакцій є порушення цитокінового статусу, оскільки саме цитокіни безпосередньо беруть участь у розвитку запалення, імунної відповіді та регенерації печінки [1, 3, 6]. У здорової людини їх продукція відсутня або мінімальна. При активації клітин і появі фізіологічних та патологічних стимулів продукція цих аутокринних, паракринних і ендокринних молекул зростає, тим самим регулюючи клітинну відповідь на зовнішні стимули [5, 8]. Каскадний характер дії цитокінів пояснюється індукцією вироблення одним цитокіном іншого, а також синергізмом (наприклад,  $\gamma$ -IFN і ФНП- $\alpha$ ) і антагонізмом (наприклад, ІЛ-4 з  $\gamma$ -IFN) у взаємодії [2, 6]. Синтез цитокінів – медіаторів запалення, досить короткостроковий процес. У зв'язку з цим складно говорити про безпосереднє діагностичне значення концентрації окремих цитокінів, але не можна заперечувати діагностичного значення визначення співвідношення концентрацій цитокінів – цитокінового профілю [3]. Саме розбалансованість цитокінової регуляції та порушення рівноваги альтернативних по біологічній активності пулів молекул спричиняє патологію [5]. Цитокіни беруть участь у регуляції розвитку запальної реакції печінкової тканини, апоптозу і некрозу клітин печінки, розвитку холестаза та фіброзу, але, як це не парадоксально, дані цитокіни водночас є медіаторами регенерації пошкодженої тканини [6]. Фактор некрозу пухлини  $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) відіграє ключову роль у розвитку хвороб печінки. Активація ФНП- $\alpha$  та його рецепторів

викликає їх агрегацію, що веде до утворення різних адапторних білків, які активують малоактивні кінази та протеази, включаючи каспази [9, 10].

За даними літератури, HCV-інфекція збільшує ризик цукрового діабету (ЦД) 2-го типу в генетично схильних осіб незалежно від стадії ушкодження печінки. Механізми формування ЦД 2-го типу включають цитокінову агресію, прямий вірусний ефект, резистентність до інсуліну та інші до кінця не вивчені процеси. Враховуючи біологічні ефекти цитокінів, обговорюється питання щодо їхньої участі в патогенезі атеросклерозу, мікро- і макроангіопатій при ЦД [10].

Таким чином, визначення спільних ланок порушення показників розвитку запалення у хворих із поєднаним перебігом хронічного гепатиту С (ХГС) і ЦД 2-го типу є перспективним та актуальним, оскільки може змінити тактику обстеження хворих з указаною патологією та визначити взаємовідносини цих патологічних станів.

**Мета роботи** – вивчити зміни показників цитокінового профілю у хворих з поєднаною патологією – хронічним гепатитом С і цукровим діабетом 2-го типу.

### Матеріали та методи

Під спостереженням перебували 400 хворих на ЦД 2-го типу з та без ХГС, віком від 41 до 70 років (у середньому –  $54,1 \pm 1,1$  року): 247 (61,7%) жінок і 153 (38,3%) чоловіки. Сформовано 2 групи хворих: основну групу становили 125 хворих на ЦД 2-го типу з ХГС; групу порівняння – 275 хворих на ЦД 2-го типу без ХГС.

При встановленні діагнозу ХГС використано класифікацію хронічних гепатитів, запропоновану на Міжнародному конгресі гастроентерологів (Лос-

Анджелес, 1994 р.), та Міжнародну класифікацію хвороб 10-го перегляду. Визначення маркерів гепатитів В і С проведено методом імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням відповідних тест-систем. Визначення РНК ВГС, генотипу та кількості РНК вірусу визначено методом полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) у режимі реального часу. Діагноз ЦД 2-го типу встановлено згідно з критеріями, запропонованими ВООЗ (2007) та Міжнародною федерацією діабету (2005 р.) на I Всесвітньому конгресі з метаболічного синдрому. Цитокинова ланка імунітету досліджена за результатами визначення концентрацій про- та протизапальних цитокінів (інтерлейкіни (ІЛ) 1 $\beta$ , 2, 4) за допомогою набору реагентів ProCon (ООО «Протеиновый контур», Росія).

### Результати дослідження та їх обговорення

У результаті проведених імунологічних досліджень встановлено, що порушення цитокинового профілю були виразнішими у хворих із ХГС, поєднаним із ЦД 2-го типу, та характеризувалися підвищенням рівня прозапальних цитокінів ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-2 та менш суттєвим протизапальних ІЛ-4, що вказує на переважання прозапальних властивостей крові над протизапальними.

Так, вміст ІЛ-1 $\beta$  у хворих на ЦД 2-го типу (група порівняння), який розглядають як показник ранньої гострофазової реакції, перевищував у середньому норму в 1,7 разу ( $p < 0,01$ ), становлячи при цьому  $48,2 \pm 2,3$  пг/мл, тоді як в основній групі – в 2,9 разу ( $p < 0,01$ ), дорівнюючи при цьому в середньому  $79,3 \pm 2,6$  пг/мл. Рівень ІЛ-2, основною функцією якого є стимуляція специфічного клітинного імунітету, також значно підвищувався (більше ніж у 7 разів) ( $p < 0,001$ ), складаючи  $89,3 \pm 1,3$  пг/мл у пацієнтів із коморбідним станом проти зростання в 1,5 разу ( $p < 0,01$ ) у групі хворих з ізольованим ЦД і

дорівнюючи при цьому в середньому  $19,5 \pm 0,7$  пг/мл. Значне підвищення рівня ІЛ-2 у хворих основної групи, головною функцією якого є стимуляція проліферації, насамперед Т-клітин, імовірно, є наслідком дії вірусу гепатиту С на тлі ЦД 2-го типу. Ці зміни ведуть до розвитку вторинного імунодефіциту та можуть супроводжуватись аутоімунним ушкодженням органів-мішеней, забезпечують безперервність запального процесу з формуванням патологічного хибного кола [6].

Рівень ФНП- $\alpha$  у крові був вищим за норму в осіб основної групи більше ніж у 2 рази ( $p < 0,01$ ) із середнім його значенням  $13,1 \pm 0,5$  пг/мл, а в осіб групи порівняння – в 1,91 разу ( $p < 0,01$ ), дорівнюючи  $11,2 \pm 0,3$  пг/мл. Водночас, високі рівні ФНП- $\alpha$  обох груп не виявили достовірної різниці між ними ( $p > 0,05$ ), що свідчить про активну роль даного цитокіну в прогресуванні печінкового ушкодження, незалежно від етіологічного чинника. Дія ФНП- $\alpha$  реалізується через здатність викликати резистентність до інсуліну, з подібними дефектами в інсуліні. Наслідком цієї резистентності у хворих на ХГС може бути розвиток ЦД 2-го типу та прогресування печінкового ушкодження.

У хворих із поєднанням ЦД і ХГС вміст протизапального цитокіну ІЛ-4 був достовірно вищим за норму, що можна пояснити значною вираженістю аутоімунного компонента в умовах коморбідної патології (постійною циркуляцією в крові антигену вірусу та імунних комплексів, які забезпечують безперервне «напруження» імунітету) на противагу хворим із ЦД, де вміст ІЛ-4 не мав вірогідних змін порівняно з групою контролю. Саме розбалансованість цитокинової регуляції та порушення рівноваги біологічно активних пулів молекул сприяє розвитку патології (табл. 1).

Таблиця 1

### Вміст показників цитокинової ланки імунітету та С-реактивного білка в сироватці крові

Показник	Контрольна група (n=30)	Хворі на ЦД 2-го типу (n=275)	Хворі на ЦД 2-го типу + ХГС (n=125)
ІЛ-1 $\beta$ , ммоль/л	$27,2 \pm 1,6$	$48,2 \pm 2,3^*$	$79,3 \pm 2,9^{\#}$
ІЛ-2, ммоль/л	$12,7 \pm 0,5$	$19,5 \pm 0,7^*$	$89,3 \pm 1,3^{\#}$
ІЛ-4, ммоль/л	$32,7 \pm 2,4$	$28,8 \pm 2,3$	$69,4 \pm 2,6^{\#}$
ФНП- $\alpha$ , пг/мл	$5,8 \pm 0,3$	$11,2 \pm 0,3^{***}$	$13,1 \pm 0,5^{***}$
СРБ, мг/л	$1,43 \pm 0,06$	$4,2 \pm 0,2^*$	$6,0 \pm 0,3^{\#}$

Примітки: різниця статистично значуща ( $p < 0,05$ ): \* – щодо показників групи контролю; # – щодо показників хворих на ЦД 2-го типу без ХГС.

Вивчення залежності між вмістом прозапальних цитокінів і ступенем вірусної агресії у хворих із коморбідним станом показало, що рівень ІЛ-1 $\beta$ , який є основним прозапальним цитокіном системної дії, є високим незалежно від вірусного навантаження (у хворих із низьким вірусним навантаженням становив  $64,1 \pm 3,2$  ммоль/л, тоді як у хворих із високим вірусним навантаженням –  $79,3 \pm 3,9$  ммоль/л). Це дало змогу

встановити, що навіть при низькому вірусному навантаженні зберігається латентний перебіг запального процесу в печінці, що веде до прогресування фібротичних змін в органі.

У хворих із поєднаним перебігом ЦД і ХГС вірогідно був підвищеним вміст позитивного реактанту гострої фази запалення – С-реактивного білка (СРБ), що є наслідком залучення до патологічного процесу

неспецифічної гуморальної ланки імунітету. При детальному аналізі цього показника в основній групі виявлено, що за наявності низького вірусного навантаження вміст СРБ дорівнював  $5,6 \pm 0,2$  мг/л, а при високому вірусному навантаженні –  $7,2 \pm 0,4$  мг/л. СРБ фактично забезпечує зв'язок між різними ланками запального процесу, запускаючи систему комплементу і всі залежні від неї реакції – адгезію, хемотаксис, фагоцитоз та модулюючи активність імунокомпетентних

клітин [1, 8]. Цей факт дає змогу розглядати СРБ як одну зі складових процесу імунорегуляції. Крім того, є підстави вважати СРБ важливим чинником підтримки гомеостазу, про що свідчить його здатність зв'язувати та елімінувати пошкоджені клітини, взаємодіяти з ліпідами крові, а також брати участь в імунних реакціях [1, 2, 9].

У системі специфічного гуморального імунітету виявлено зміни, які були різноспрямованими в обстежених групах хворих (табл. 2).

Таблиця 2

Показники специфічної гуморальної ланки імунітету, г/л

Показник	Контрольна група (n=30)	Хворі на ЦД 2-го типу (n=275)	Хворі на ЦД 2-го типу + ХГС (n=125)
IgM	$1,2 \pm 0,11$	$0,6 \pm 0,1^*$	$2,4 \pm 0,2^{\#}$
IgG	$12,3 \pm 0,1$	$19,1 \pm 0,2^*$	$17,6 \pm 0,3^*$

Примітки: різниця статистично значуща ( $p < 0,05$ ): \* – щодо показників групи контролю; # – щодо показників хворих на ЦД 2-го типу без ХГС.

У хворих із поєднанням ЦД і ХГС зареєстровано підвищення вмісту IgM, що стало наслідком розвитку аутоімунних процесів. Зменшення концентрації IgM у хворих з ізольованим ЦД, імовірно, пов'язане з активним його використанням у процесах формування циркулюючих імунокомплексів (ЦІК), оскільки вони є їх складовою. Зареєстроване збільшення вмісту IgG в обох групах обстежених хворих свідчить про наявність хронічного запального процесу та активну участь цього класу імуноглобулінів у регуляції імунної відповіді. Адже саме IgG, крім активної участі в імунних реакціях, володіє регуляторною функцією – за типом зворотного зв'язку, впливає на активність інших імунологічних механізмів (гуморальних і клітинних), що зумовлює повноцінність імунної відповіді [2].

За отриманими даними, 76,6% хворих з високим рівнем ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-2 мали тяжкий перебіг ЦД 2-го типу та прогресуючий перебіг діабетичних ангіопатій. Аналіз частоти мікросудинних ускладнень показав, що у хворих на ЦД 2-го типу з HCV-інфекцією частіше, ніж у хворих без вірусу, спостерігалася діабетична нефропатія (ДН) і синдром «діабетична стопа», з більшою їх частотою у хворих із високим вірусним навантаженням і виразнішим дисбалансом цитокінів. ДН мали 77,5% хворих із високим вірусним навантаженням та 34,2% ( $p < 0,001$ ) – з низьким. На наш погляд, це пояснюється тим, що антигени вірусу гепатиту С, а інколи й сама РНК HCV можуть знаходитись у судинних структурах клубочків нирок, в інтерстиціальній тканині та безпосередньо в ендотелії судин нирок [4]. Важливою особливістю HCV-інфекції є надзвичайна здатність вірусу до тривалої персистенції в організмі хазяїна та безпосередня, пошкоджуюча дія на клітинному рівні, що й обтяжує перебіг ДН, а тому стан високого вірусного навантаження посилює ушкодження базальної мембрани ниркових клубочків унаслідок гіперглікемії, чим прискорює прогресування ДН.

«Діабетична стопа» формувалася значно частіше серед хворих основної групи – у 16,8%, ніж у хворих групи порівняння, де цей синдром мав місце у 4,7% хворих. Вірогідно частіше ( $p < 0,01$ ) спостерігалася це ускладнення у хворих із високим вірусним навантаженням, ніж із низьким – 30,6% проти 7,9% випадків. Це зумовлено прямою ушкоджувальною дією вірусу на судинну стінку та стимуляцією запального процесу.

Активізація прозапальних цитокінів, що володіють цитотоксичною дією на ендотелій, посилює запалення, зумовлюючи осідання імунних комплексів на стінку судин, унаслідок чого виникають умови для прогресування синдрому «діабетична стопа». При цьому рівень протизапального цитокіну – ІЛ-4 залишається на низькому рівні, що дає змогу прозапальним цитокінам стимулювати судинне запалення. Посилення судинного запалення, своєю чергою, веде до масивного вироблення ІЛ-1 $\beta$ , здатного викликати деструкцію  $\beta$ -клітин острівкового апарату підшлункової залози та призвести до інсулінової недостатності.

## Висновки

У хворих на ЦД 2-го типу поєднаний з ХГС цитокіновий профіль характеризується вираженим підвищенням рівнів ІЛ-1 $\beta$  і ІЛ-2.

Хронічний гепатит С, посилюючи судинне запалення, погіршує клінічний перебіг ЦД 2-го типу з прогресуванням діабетичних ангіопатій.

## Перспективи подальших досліджень

Указані обставини зумовлюють необхідність удосконалення підходів до корекції ХГС у хворих із ЦД 2-го типу, що є перспективою подальших досліджень.

## Література

1. Дранник Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология: пособие / Г. Н. Дранник. – 4-е изд., доп. – Киев : Полиграф плюс, 2010. – 552 с.
2. Иммунология / Д. Мейл, Дж. Бростофф, Д. Б. Рот [и др.] – Москва : Логосфера, 2007. – 556 с.
3. Казмірчук В. Є. Роль цитокінів у виявленні функціональних порушень імунітету / В. Є. Казмірчук, Д. С. Мальцев // Ліки України. – 2004. – № 2. – С. 15–18.
4. Креель П. Е. Внепеченочная локализация вируса гепатита С: особенности клинических проявлений и прогностическая значимость / П. Е. Креель, О. Д. Цинзерлинг // Терапевтическим архив. – 2009. – № 11. – С. 63–68.
5. Фрейдлин И. С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции / И. С. Фрейдлин // Иммунология. – 2001. – № 5. – С. 4–7.
6. Цитокины: общебиологические и кардиальные эффекты / О. Н. Ковалева, Т. Н. Амбросова, Т. В. Ащеулова [и др.]. – Харьков, 2007. – 226 с.
7. Шапиро И. Я. Особенности иммунного ответа и цитокиновый статус при различных вариантах течения цирроза печени / И. Я. Шапиро, Сун Ок Сек, Б. Е. Кноринг // Медицинская иммунология. – 2002. – Т. 4, № 4–5. – С. 545–552.
8. Bataller R. Liver fibrosis / R. Bataller, D. Brenner // J. Clin. Invest. – 2005. – Vol. 115. – P. 209–218.
9. C-reactive protein as a predictor of prognosis in COPD / M. J. Dahl, P. Vestbo, S. E. Lange [et al.] // Am. J. Resp. Crit. Care Med. – 2007. – Vol. 175. – P. 250–255.
10. Levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ , and IL-6 in patients with chronic hepatitis C virus infection and hyperinsulinemia / L. A. Salazar, X. García-Samper, S. Alcázar-Leyva [et al.] // Open Journal of Immunology. – 2013. – Vol. 3 (1). – P. 17–23.

Дата надходження рукопису до редакції: 29.02.2016 р.

**Изменения показателей цитокинового профиля у больных с сочетанной патологией**

*М.А. Дербак, Э.Й. Архий, О.М. Москаль*  
ГБУЗ «Ужгородский национальный университет»,  
г. Ужгород, Украина

**Цель** – изучить изменения показателей цитокинового профиля у больных с сочетанной патологией – хроническим гепатитом С и сахарным диабетом 2-го типа.

**Материалы и методы.** Обследовано 400 больных: основная группа – 125 больных сахарным диабетом 2-го типа с хроническим гепатитом С и группа сравнения – 275 больных сахарного диабета 2-го типа без хронического гепатита С.

**Результаты.** У больных основной группы установлено повышение уровней ИЛ-1 $\beta$  в 2,9 раза и ИЛ-2 больше чем в 7 раз, а в группе сравнения – в 1,7 и 1,5 раза соответственно в сравнении с группой контроля. Высокие уровни ФНП- $\alpha$  в обеих группах не имели достоверной разницы между ними ( $p>0,05$ ), что свидетельствует об активной роли данного цитокина в прогрессировании печеночного повреждения независимо от этиологического фактора. У больных основной группы чаще, чем у больных группы сравнения, наблюдалось прогрессирующее течение ангиопатий.

**Выводы.** У больных с сочетанной патологией печени цитокиновый профиль характеризуется выраженным повышением уровней ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-2.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2-го типа, хронический гепатит С, цитокины.

**Changes of cytokine profile indices of patients with combined disease**

*M.A. Derbak, E.Y. Arhiy, O.M. Moskal*  
SHEI «Uzhgorod National University», Uzhgorod, Ukraine

**Purpose** – to study the changes of cytokine profile of patients with combined pathology – chronic hepatitis C and diabetes mellitus type 2.

**Materials and methods.** The study involved 400 patients: main group – 125 patients with type 2 diabetes with chronic hepatitis C and the comparison group – 275 patients with type 2 diabetes without chronic hepatitis C.

**Results.** Patients of the main group have IL-1 $\beta$  level increased in 2.9 times and IL-2 in more than 7 times, and the comparison group has in 1.7 and 1.5 times respectively, compared with the control group. High levels of TNF- $\alpha$  in both groups did not reveal a significant difference between them ( $p>0.05$ ) what indicates to the active role of cytokines in the liver damage progression regardless of the etiological factor. Patients of the main group are more likely than the comparison group patients to have a progressive course of angiopathy.

**Conclusions.** Patients with combined liver pathology have a cytokine profile characterized by a marked increase of IL-1 $\beta$  and IL-2 levels.

**Key words:** type 2 diabetes, chronic hepatitis C, cytokines.

**Відомості про авторів**

**Дербак Марія Антонівна** – к.мед.н., доц., доцент кафедри пропедевтики внутрішніх хвороб медичного факультету ДВНЗ «Ужгородський національний університет»; пл. Народна, 3, м. Ужгород, Закарпатська обл., 88000, Україна.

**Архий Емілія Йосипівна** – д.мед.н., проф., зав. кафедри пропедевтики внутрішніх хвороб ДВНЗ «Ужгородський національний університет»; пл. Народна, 3, м. Ужгород, Закарпатська обл., 88000, Україна.

**Москаль Оксана Миколаївна** – к.мед.н., доц., доцент кафедри пропедевтики внутрішніх хвороб медичного факультету ДВНЗ «Ужгородський національний університет»; пл. Народна, 3, м. Ужгород, Закарпатська обл., 88000, Україна.