



УДК 616.9:612.017

Т. В. Чабан, канд. мед. наук, доц.

ОСОБЛИВОСТІ ПРОДУКЦІЇ ДЕЯКИХ ЦИТОКІНІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ГЕПАТИТ С

Одеський державний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 616.9:612.017

Т. В. Чабан

ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКЦИИ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

Одесский государственный медицинский университет, Одесса, Украина

Обследованы 120 больных хроническим гепатитом С с разной степенью активности гепатита и 50 практически здоровых людей. В сыворотке их крови исследована продукция IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, IL-1Ra. Обнаружен существенный дисбаланс в функционировании цитокинов, приводящий к последующему прогрессированию заболевания, активации процесса фиброза и развитию цирроза в печеночной ткани.

Ключевые слова: хронический гепатит С, цитокины.

UDC 616.9:612.017

T. V. Tchaban

SOME CYTOKINES PRODUCTION PECULIARITIES IN THE PATIENTS SUFFERING FROM CHRONIC HEPATITIS C

The Odesa State Medical University, Odesa, Ukraine

120 patients with different activity of chronic hepatitis C and 50 healthy persons were examined. Production of IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, IL-1Ra was investigated in blood serum of the people. Functional disbalance of the cytokine system is established. Such violations favour the disease aggravation, activation of fibrosis process and development of cirrhosis in the liver tissue.

Key words: chronic hepatitis C, cytokines.

Проникнення HCV до організму людини, його перфузія в гепатоцити та репродукція в них вірусу — пусковий механізм включення каскаду метаболічних, імунних реакцій, розвитку деструктивних, захисних, репаративних процесів. Останнім часом наводяться дані, які свідчать про те, що хронічні вірусні захворювання печінки супроводжуються змінами в системі цитокинів, ступінь вираженості яких залежить від активності та стадії гепатиту. Припускають, що дисбаланс Th1/Th2 на ранніх стадіях захворювання є однією з причин персистенції HCV в організмі людини [1–5].

Важливу роль у процесі формування імунної відповіді відіграють цитокини, які забезпечують імунорегуляцію. В активації імунної системи, координуваному функціонуванні її елементів, розвитку клітинної імунної відповіді бере участь інтерлейкін (IL)-2. Цей цитокін сприяє активації процесів поділу в клітинах, у яких він був синтезований. За рахунок цього посилюється функція всієї популяції Т-лімфоцитів [5–7].

Індуктором синтезу IL-2 є прозапальний IL-1, клітинами-мішенями для якого виступають клітини практично всіх органів і тканин; IL-1 — го-

ловний медіатор розвитку місцевої запальної реакції та гострофазової відповіді на рівні організму. Дія IL-1 спрямована на стимуляцію комплексу захисних реакцій, що призводить до обмеження розповсюдження інфекції, елімінації патогенів, які проникли всередину організму, та відновлення цілісності ушкоджених тканин [5–9].

До сімейства IL-1 належать прозапальні IL-1 α та IL-1 β , а також антагоніст рецептора IL-1 (IL-1Ra), якому притаманна протизапальна активність; IL-1Ra взаємодіє з тими ж рецепторами, що й IL-1, але не викликає подальшого проведення внутрішньоклітинного сигналу. Цікавим є той факт, що продукцію IL-1Ra стимулюють не лише різні цитокини, а й вірусні продукти та білки гострої фази. Це свідчить про можливість активної експресії IL-1Ra у запальних осередках при багатьох хронічних захворюваннях. Проведені дослідження, які вказують на те, що *in vivo* баланс між IL-1 та IL-1Ra відіграє важливу роль у захисті організму від інфекції [7–10].

Продукцію IL-1Ra стимулюють IL-4, IL-10 та інші цитокини. Одним із представників цитокинів є IL-4, здатний активувати Th-лімфо-

цити в бік Th2-лімфоцитів, що приводить до стимуляції гуморальної ланки імунної відповіді. Відповідно протизапальний IL-4 інгібує функції Th1-лімфоцитів і пригнічує синтез прозапальних медіаторів. Однією з функцій IL-10 є стимуляція росту і диференціації активованих В-лімфоцитів, Тс-лімфоцитів і активація НК-клітин; IL-10 є антагоністом IFN- γ : ці цитокіни інгібують як продукцію, так і біологічну активність один одного. Надлишок IL-10 призводить до зниження протиінфекційного захисту та розвитку хронічних інфекцій [5–7].

Вивченню продукції основних регуляторних цитокінів при різних інфекційних захворюваннях, у тому числі при хронічному гепатиті С (ХГС), присвячено багато досліджень. Отримані різними авторами дані часто суперечливі. До того ж, у роботах дослідників відсутні результати комплексного визначення представників цитокінів у хворих на ХГС із різним ступенем активності гепатиту. Та все ж, на наш погляд, такі дослідження потрібні, бо дозволять збагатити уявлення про патогенез ХГС, підвищити ефективність існуючої терапії.

Метою роботи було визначення продукції IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10 та IL-1Ra у хворих на ХГС залежно від активності запального процесу в печінці.

Матеріали та методи дослідження

Під спостереженням знаходилися 120 хворих на ХГС і 50 практично здорових людей. Вік хворих коливався від 22 до 58 років. Серед пацієнтів було 69 чоловіків і 51 жінка.

З метою встановлення діагнозу й оцінки ступеня тяжкості хвороби використовували загальноприйнятні клінічні, біохімічні та вірусологічні методи обстеження. В усіх хворих у сироватці крові визначали концентрацію загального білірубину та його фракцій, активність амінотранс-

фераз, тимолової проби, наявність RNA HCV, аHCV IgM, аHCV IgG. За допомогою ультразвукового метода встановлювали стан і розміри печінки та селезінки, розраховували селезінковий індекс.

Відповідно до класифікації хронічних гепатитів (Міжнародний конгрес гастроентерологів, Лос-Анджелес, 1994) хворі були поділені на чотири групи (по 30 осіб у кожній). До I групи (мінімальна активність гепатиту) ввійшли пацієнти, в яких спостерігалася нормальна активність АлАТ. До II групи (слабко виражена активність гепатиту) включали пацієнтів, у яких підвищення активності АлАТ було меншим ніж утричі. До III групи (помірно виражена активність гепатиту) ввійшли пацієнти, в яких зафіксовано підвищення активності АлАТ у 3–10 разів. А IV група (виражена активність гепатиту) представлена пацієнтами, у сироватці крові яких відбувалося підвищення активності АлАТ більше ніж у 10 разів.

Кількісне вивчення цитокінів у сироватці крові хворих проводили за допомогою методу проточної лазерної цитометрії з застосуванням парамагнітних часток. Дослідження здійснювали на проточному лазерному цитофлюорометрі FACS Calibur™ System (виробник Becton Dickinson), користуючись тест-системами й інструкцією виробника.

Отримані результати статистично оброблені на персональному комп'ютері PC Pentium III 500 за допомогою програми Statistica + for Windows.

Результати дослідження та їх обговорення

Проведені дослідження показали, що у хворих на ХГС відбуваються суттєві порушення продукції основних регуляторних цитокінів (таблиця).

У відповідну захисну реакцію організму за наявності вірусної інфекції одним із перших включається IL-1 β . Цей цитокін здатний активувати

Таблиця

Продукція IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-10, IL-1Ra в сироватці крові хворих на хронічний гепатит С залежно від активності хвороби, M \pm m

| Цитокіни, пг/мл | Групи спостереження | | | | |
|-----------------------|---|---|---|--|-------------------------|
| | I група — хворі з мінімальною активністю гепатиту, n=90 | II група — хворі зі слабо вираженою активністю гепатиту, n=90 | III група — хворі з помірно вираженою активністю гепатиту, n=90 | IV група — хворі з вираженою активністю гепатиту, n=90 | Практично здорові, n=50 |
| IL-1 β | 55,910 \pm 6,727* | 67,900 \pm 5,114* | 174,290 \pm 9,347* | 228,750 \pm 12,415* | 40,260 \pm 2,534 |
| IL-2 | 41,540 \pm 3,067* | 46,730 \pm 4,235* | 74,380 \pm 5,244* | 101,220 \pm 8,685* | 35,180 \pm 1,274 |
| IL-4 | 73,770 \pm 6,254* | 56,810 \pm 5,413* | 31,540 \pm 4,125* | 15,090 \pm 2,338* | 20,170 \pm 1,803 |
| IL-10 | 27,920 \pm 2,883* | 24,210 \pm 1,596* | 15,570 \pm 1,061* | 11,820 \pm 1,672* | 18,290 \pm 0,573 |
| IL-1Ra | 1261,530 \pm 74,203* | 1432,290 \pm 76,612* | 847,340 \pm 69,863* | 724,260 \pm 53,425* | 981,450 \pm 49,874 |
| IL-1 β / IL-1Ra | 0,040 \pm 0,001 | 0,050 \pm 0,001 | 0,200 \pm 0,001* | 0,300 \pm 0,002* | 0,040 \pm 0,001 |

Примітка. * — вірогідна різниця порівняно з показниками здорових осіб, P<0,05.

T- і В-лімфоцити, посилювати їх цитотоксичні властивості. В обстежених хворих на ХГС відмічено значне підвищення вмісту ІЛ-1 β , ступінь вираженості якого залежав від активності гепатиту (див. таблицю). Так, у хворих із мінімальною активністю патологічного процесу в печінці відбувалося збільшення продукції ІЛ-1 β у 1,4 разу; у хворих із слабкою активністю — в 1,7 разу порівняно з результатами практично здорових ($P < 0,05$). Максимальні цифри ІЛ-1 β зафіксовані у пацієнтів із помірною ($(174,290 \pm 9,347)$ пг/мл) і вираженою ($(228,750 \pm 12,415)$ пг/мл) активністю гепатиту. Середні значення в цих групах спостереження перевищували фізіологічний показник у 4,3 і 5,7 разу відповідно ($P < 0,05$).

ІЛ-1 β стимулює продукцію ІЛ-2 — фактора проліферації та дозрівання Т-лімфоцитів. Дані, наведені в таблиці, свідчать, що хронічна НСV-інфекція супроводжується збільшенням рівня ІЛ-2 у сироватці крові пацієнтів. При проведенні кореляційного аналізу встановлений прямий зв'язок між показником ІЛ-2 і АлАТ. Коефіцієнт кореляції дорівнював 0,993, що свідчить про виражену силу такого зв'язку, тобто зростання кількості ІЛ-2 у хворих на ХГС відбувається разом із активацією ферменту АлАТ і прогресуванням запального процесу в печінці.

Інша спрямованість виявлена при дослідженні динаміки ІЛ-4 та ІЛ-10. Так, максимальний рівень ІЛ-4 зафіксовано в сироватці крові хворих I групи спостереження (у 3,6 разу перевищував результат здорових обстежених). Але подальше збільшення активності гепатиту та виражений процес фіброзоутворення в печінковій тканині перебігали на фоні зменшення (порівняно з I групою) продукції ІЛ-4. У II групі обстежених цей показник збільшувався в 2,8 разу, а в III — лише в 1,6 разу порівняно з даними практично здорових людей. У групі пацієнтів із вираженою активністю гепатиту (активація АлАТ більша ніж у 10 разів) кількість ІЛ-4 була в 1,3 разу меншою, ніж фізіологічний показник ($P < 0,05$).

Встановлено зворотний кореляційний зв'язок між ІЛ-4 і АлАТ ($r = -0,993$), ІЛ-4 та ІЛ-1 β ($r = -0,983$), що може бути пов'язаним зі здатністю ІЛ-4 конкурувати за рецептори з ІЛ-1 β , частково блокуючи його ефекти. Однак в умовах НСV-інфекції спостерігається значна недостатність продукції ІЛ-4 і неможливість здійснення основних біологічних функцій цього цитокіну.

Динаміка продукції ІЛ-10 та ІЛ-4 схожа, але показники ІЛ-10 були нижчими фізіологічних даних у III і IV групах спостереження (відповідно в 1,2 та 1,5 рази).

ІЛ-4 та ІЛ-10 беруть участь у процесі активації Th2-лімфоцитів і, відповідно, стимуляції гуморальної ланки імунної відповіді. При ХГС, за умов недостатності продукції ІЛ-4 та ІЛ-10, даний механізм не спрацьовує. Кінцевим результатом цього є зростання активності гепатиту, прискоро-

рення процесів фіброзоутворення та розвитку цирозу в печінці хворих.

Сьогодні ІЛ-1Ra — це єдиний відомий цитокін-антагоніст, який зв'язується з одним із рецепторів ІЛ-1, він здатен модулювати запальний процес шляхом блокування негативних ефектів ІЛ-1. На рівень продукції ІЛ-1Ra суттєвий вплив справляють ІЛ-4 та ІЛ-10.

При дослідженні вмісту ІЛ-1Ra виявлено своєрідну динаміку, спрямованість і вираженість якої змінювалися разом зі зростанням активності гепатиту у хворих на ХГС. Якщо у представників I та II груп спостереження реєструвалося поступове збільшення продукції ІЛ-1Ra — в 1,3 разу за умов нормальної активності АлАТ і в 1,4 разу за умов активації АлАТ до 3 разів, то в III і IV групах спостереження зафіксовано зменшення цього показника (відповідно в 1,2 та 1,3 разу порівняно з практично здоровими), тобто підвищення активності гепатиту супроводжується розвитком недостатності продукції ІЛ-1Ra. Слід відмітити, що хворі з помірною та вираженою активністю гепатиту часто скаржилися на загальну слабкість, швидку втомлюваність, різноманітні диспептичні розлади. Середні значення показника АлАТ у III групі спостереження дорівнювало ($5,580 \pm 0,441$) ммоль/(г·л); у IV групі — ($8,090 \pm 1,126$) ммоль/(г·л). У всіх пацієнтів цих груп встановлено підвищення тимолової проби, у 11 хворих відмічена гіпербілірубінемія, у 33 — гіпо- та диспротеїнемія.

Порушення продукції ІЛ-1 β та ІЛ-1Ra відбивалося на формуванні показника ІЛ-1 β / ІЛ-1Ra. У разі мінімальної та слабко вираженої активності гепатиту означений показник знаходився в межах фізіологічних величин. При помірній і вираженій активності гепатиту зафіксовано значне його збільшення. Проведення статистичної обробки отриманих результатів показало, що середні значення ІЛ-1 β / ІЛ-1Ra в 5 разів у III і в 7,5 рази в IV групі перевищувало дані, отримані у практично здорових людей і в пацієнтів I та II груп спостереження, тобто відбувався зсув рівноваги ІЛ-1 β / ІЛ-1Ra в бік ІЛ-1 β . Описані порушення, на наш погляд, свідчать про неадекватну продукцію ІЛ-1Ra, яка призводить до неможливості зв'язування необхідної кількості ІЛ-1Ra з рецептором ІЛ-1. Це може бути одним із факторів, які спричинюють формування недостатності захисту організму хворих від дії вірусу гепатиту С.

Висновки

1. У хворих на ХГС спостерігається суттєвий дисбаланс у функціонуванні цитокінів.

2. Встановлена неоднакова тенденція вмісту ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-10 та ІЛ-1Ra. Якщо показники ІЛ-1 β та ІЛ-2 підвищувались у міру прогресування хвороби, то максимальні значення ІЛ-4, ІЛ-10 та ІЛ-1Ra зафіксовані при мінімальній активності гепатиту. Найменших результатів рі-

вень ІІ-4, ІІ-10 та ІІ-1Ra набував у групі хворих з вираженою активністю гепатиту.

3. Такі зміни призводять до неадекватного реагування імунної системи хворих у відповідь на втручання НСУ, що спричинює подальше прогресування захворювання, активацію процесу фіброзування та розвитку цирозу в печінковій тканині.

4. Враховуючи означені порушення, у комплексному лікуванні хворих на ХГС слід використовувати імуномодулюючі препарати.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вірстюк Н. Г. Клініко-патогенетичні особливості перебігу хронічних гепатитів та розвитку цирозу печінки, диференційовані методи лікування: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.10 / Івано-Франківськ, 2002. — 43 с.
2. Галицький В. А. Апоптоз гепатоцитів і патогенез вірусних гепатитів та їх окремих ускладнень // Вирусные гепатиты с парентеральным механизмом передачи возбудителей и их исходы. — К., 2001. — С. 93-97.

3. Громашевская Л. Л. Вирусные гепатиты как полиорганная системная патология // Там же. — С. 97-101.

4. Дьяченко А. А., Красовицкий З. И., Дьяченко А. Г. Продукция цитокинов при инфекции вирусом гепатита С // Сучасні інфекції. — 2001. — № 3. — С. 17-25.

5. Antiviral cell-mediated immune responses during hepatitis B and hepatitis C virus infections / C. Ferrari, A. Penna, A. Bertolotti et al. // Recent Results Cancer Res. — 1998. — Vol. 16. — P. 390-399.

6. Якобисяк М. Імунологія: Пер. з польської / За ред. проф. В. В. Чоп'як. — Вінниця: Нова книга, 2004. — 672 с.

7. Cytokine Reference / J. Oppenheim, M. Feidman (Eds.). — London: Academic Press, 2000. — 2015 p.

8. Dinarello C. Biologic basis for interleukin-1 in disease // Blood. — 1996. — Vol. 87. — P. 2095-2147.

9. Громова А. Ю., Симбирцев А. С. Полиморфизм генов семейства ІІ-1 человека // Цитокины и воспаление. — 2005. — Т. 4, № 2. — С. 3-12.

10. Interleukin-1 receptor antagonist (ІІ-1 ra) is an acute-phase protein / C. Galay, M. F. Smith, D. Eidlen, W. R. Arend // J. Clin. Invest. — 1997. — Vol. 99. — P. 2930-2940.

УДК 615.9:[546.289+577.164

В. Д. Лук'янчук, д-р мед. наук, проф.,
Д. С. Кравець, канд. мед. наук, доц.,
Л. В. Чадова

ТОКСИКОМЕТРИЯ ПОТЕНЦІЙНОГО ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРА МІГУ-1

Луганський державний медичний університет, Луганськ, Україна

УДК 615.9:[546.289+577.164

В. Д. Лук'янчук, Д. С. Кравець, Л. В. Чадова

ТОКСИКОМЕТРИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРА МІГУ-1

Луганский государственный медицинский университет, Луганск, Украина

Результаты экспериментальных и расчетных данных токсикометрических исследований координационного соединения германия с никотиновой кислотой (МІГУ-1) в рамках современных требований врачебной токсикологии на доклиническом этапе позволили сделать вывод, что данное соединение не представляет особой опасности для теплокровных животных и человека.

Ключевые слова: токсичность, ишемия, координационное соединение германия.

UDC 615.9:[546.289+577.164

V. D. Lukyanchuk, D. S. Kravets, L. V. Tchadova

TOXICOMETRY OF POTENTIAL CEREBROPROTECTOR MIGU-1

The Lugansk State Medical University, Lugansk, Ukraine

The results of experimental and calculating information of toxicometric researches of coordinating compound of germanium with nicotinic acid (MIGU-1) according to modern requirements of drug toxicology at the pre-clinical stage allowed to draw a conclusion that this compound offers no danger for warmblooded animals and a man.

Key words: toxicity, ischemia, coordinating compound of germanium.

Висока смертність та інвалідизація хворих із дуже обмеженими перспективами відновлення порушених функцій при гострих цереброваскулярних захворюваннях, і особливо ішемічному інсульті головного мозку, визначають пріоритетність завдань, які стоять перед сучасною фармакологічною наукою в плані пошуку нових церебропротекторних засобів [1–4]. Актуальність даної проблеми зумовлена ще й тим, що медичний і соціальний характер наслідків цереброваскулярної недостатності посилюється низькою ефективністю та наявністю різноманітних побічних ефектів

у існуючих в арсеналі лікарів засобів, що, певною мірою, обмежує їх використання в клініці [5; 6].

Раніше проведеними нами [7] скринінговими дослідженнями була встановлена виражена церебропротекторна активність координаційної сполуки германію з нікотиною кислотою (МІГУ-1). Слід враховувати те, що важливим етапом доклінічного вивчення потенційних лікарських засобів є комплексне визначення їх токсикологічних характеристик, що забезпечують отримання цінної інформації про ступінь токсичності та небезпеки препарату для здоров'я і життя пацієнтів [8].