



О.О. Фурик, О.В. Рябокониь

## ДИНАМІКА ЗМІН ЦИТОКІНОВОГО СТАТУСУ У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ГЕПАТИТ В ІЗ СУПУТНІМ ХРОНІЧНИМ АЛКОГОЛЬНИМ УРАЖЕННЯМ ПЕЧІНКИ НА ФОНІ РІЗНИХ СХЕМ ПАТОГЕНЕТИЧНОГО ЛІКУВАННЯ

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** гострий гепатит В, алкогольне ураження печінки, цитокіни, L-аргінін, тіотриазолін.

**Ключевые слова:** острый гепатит В, алкогольное поражение печени, цитокины, L-аргинин, тиотриазолин.

**Key words:** acute hepatitis B, alcoholic liver disease, cytokines, L-arginine, thiotriazolin.

Показано, що у хворих на гострий гепатит В із супутнім хронічним алкогольним ураженням печінки дисбаланс цитокінової регуляції є вираженішим. Додаткове включення до базисної терапії цих хворих L-аргініну та тіотриазоліну пришвидшує відновлення параметрів цитокінового балансу, запального процесу в печінці та збільшує частоту сероконверсії з появою anti-HBeAg.

Показано, что у больных острым гепатитом В с сопутствующим хроническим алкогольным поражением печени дисбаланс цитокінової регуляції является более выраженным. Дополнительное включение в базисную терапию этих больных L-аргініна и тиотриазолина ускоряет восстановление параметров цитокінового балансу, воспалительного процесса в печени и увеличивает частоту сероконверсии с появлением anti-HBeAg.

It is shown that in patients with acute hepatitis B associated with chronic alcoholic liver disease imbalance in cytokine regulation is more pronounced. Inclusion of L-arginine and thiotriazolin into the basic treatment of these patients speeds up recovery of cytokine balance and inflammation parameters in liver and increases the frequency of seroconversion with the appearance of anti-HBeAg.

Актуальність вірусного гепатиту В (ГВ) зумовлена високим рівнем захворюваності, складністю патогенезу, недостатньою ефективністю лікування, тяжкими наслідками хвороби. На перебіг гострого ГВ та його наслідки може впливати низка факторів, зокрема наявність супутніх уражень печінки. Серед комбінованих уражень печінки особлива увага на сьогодні приділяється вірусно-алкогольним [1]. Тривале вживання алкоголю призводить до різних порушень структури та функцій печінки, що можуть бути представлені стеатозом, стеатогепатитом або навіть цирозом печінки [2].

Провідну роль у патогенезі багатьох захворювань печінки відіграють імунні реакції, зокрема зрушення в цитокіновому балансі, оскільки саме цитокіни беруть безпосередню участь у розвитку запалення, адекватній імунній відповіді та регенерації печінки. Дисбаланс у системі цитокінового регуляторного ланцюга є ключовою ланкою імунних порушень при захворюваннях печінки, а незбалансованість продукції цитокінів Т-хелперами 1 і 2 типів відіграє важливу роль в імунопатогенезі HBV-інфекції [3].

Незважаючи на значну кількість робіт, присвячених вивченню гострого ГВ, клініко-патогенетична роль змін цитокінової регуляції у хворих на гострий ГВ з наявністю супутнього хронічного алкогольного ураження печінки залишаються недостатньо з'ясованою.

### МЕТА РОБОТИ

Визначити динаміку змін цитокінового статусу у хворих на гострий гепатит В із супутнім хронічним алкогольним ураженням печінки на фоні лікування L-аргініном і тіотриазоліном.

### ПАЦІЄНТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Під спостереженням перебували 85 хворих на гострий ГВ. Вік хворих – від 18 до 67 років (55 чоловіків і 30 жінок). У 33 (38,8%) пацієнтів діагностовано тяжкий, у 52 (61,2%)

– середньотяжкий перебіг захворювання. Діагноз гострого ГВ встановлено за результатами клініко-епідеміологічних, біохімічних досліджень, підтверджено виділенням в крові відповідних маркерів (HBsAg, HBeAg, IgM anti-HBcor, HBV-DNA). Маркери інших вірусних гепатитів і ВІЛ-інфекції були негативні. Усі хворі залучені в дослідження за випадковою ознакою та за інформованою згодою.

При формуванні груп пацієнтів використовували класифікацію вживання алкогольних напоїв з урахуванням періодичності і дози спожитого алкоголю [4]. Хворі на гострий ГВ розподілені на групи: I група – 43 хворих із супутнім хронічним алкогольним ураженням печінки, серед яких залежно від проведеного лікування виділено підгрупи: I-A – 21 пацієнт, що в періоді розпалу додатково до базисної терапії отримали лікування тівортіном (L-аргінін) внутрішньовенно крапельно 4,2% 100,0 мл протягом 5 днів, потім перорально тівортін аспарат по 15,0 мл тричі на добу на курс 15 днів, який поєднували з тіотриазоліном 2,5% 2,0 мл протягом 5 днів внутрішньом'язово з наступним пероральним прийомом по 100 мг тричі на добу 15 днів [5]; I-B група – 22 пацієнти, які отримували тільки традиційну базисну терапію. II групу склали 42 хворих на гострий ГВ без супутнього алкогольного ураження печінки, які отримували традиційну базисну терапію.

Методом імуноферментного аналізу визначали вміст у сироватці крові інтерлейкінів (ІЛ), а саме ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-8, туморнекротизуючого фактора альфа (TNF- $\alpha$ ) (Bender Med Systems, Австрія) та IgG anti-HBeAg (Вектор Бест, Новосибірськ). Усі дослідження за період спостереження проводили двічі: при надходженні хворих у стаціонар (період розпалу захворювання) та на момент виписки зі стаціонару (період реконвалесценції). Контрольну групу склали 20 здорових осіб. Усі спеціальні лабораторні дослідження



проведені в Центральній науково-дослідній лабораторії Запорізького державного медичного університету (завідувач – д. мед. н., професор А.В. Абрамов).

Отримані результати досліджень статистично опрацьовані з використанням сформованої бази даних обстежених пацієнтів і здорових осіб у програмі «STATISTICA® for Windows 6.0».

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У період розпалу гострого ГВ середні показники основних біохімічних параметрів хворих I групи мали тенденцію до зростання, проте статистично не відрізнялись ( $p > 0,05$ ) від відповідних параметрів хворих II групи: вміст загального білірубину склав  $179,8 \pm 8,4$  і  $164,7 \pm 7,8$  мкмоль/л, активність АлАТ у сироватці крові –  $9,47 \pm 0,28$  і  $9,2 \pm 0,3$  ммоль/год.л відповідно. Аналіз маркерного профілю показав, що у всіх хворих на гострий ГВ при госпіталізації позитивними були НВsAg й IgM anti-HBсor, а частота виявлення НВeAg не відрізнялась ( $\chi^2=1,42$ ,  $p > 0,05$ ) у досліджуваних групах: у 25 (58%) хворих I групи й у 19 (45%) пацієнтів II групи.

Аналіз результатів дослідження параметрів цитокинової регуляції у хворих на гострий ГВ у період розпалу захворювання продемонстрував, що вміст у сироватці крові ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-8 та TNF- $\alpha$  як у хворих із супутнім хронічним алкогольним ураженням печінки, так і у пацієнтів без цього супутнього фактора перевищували ( $p < 0,05-0,01$ ) показники здорових людей. Проте порівняння вмісту цих цитокінів продемонструвало, що вміст ІЛ-2 у сироватці крові хворих I-Б групи був нижче ( $p < 0,05$ ), а вміст ІЛ-8, навпаки, вищим ( $p < 0,01$ ) за аналогічні показники пацієнтів II групи (табл. 1).

Період реконвалесценції супроводжувався зниженням ( $p < 0,05-0,01$ ) вмісту досліджуваних цитокінів у сироватці крові хворих обох груп, порівняно з відповідними показниками в період розпалу гострого ГВ. Проте порівняльний аналіз показав, що у хворих I-Б групи вміст ІЛ-2 у сироватці крові залишався нижче ( $p < 0,05$ ), а вміст ІЛ-8 вище ( $p < 0,05$ ), ніж у пацієнтів II групи. До того ж, на момент виписки зі стаціонару вміст ІЛ-2 у сироватці крові хворих I-Б групи значно знизився й мав тенденцію до нижчого рівня ( $p > 0,05$ ) за аналогічний показник здорових людей. У хво-

рих II групи, на відміну від пацієнтів I-Б групи, у період реконвалесценції відзначено нормалізацію вмісту протизапальних цитокінів при збереженні підвищеного, порівняно зі здоровими людьми, вмісту прозапальних цитокінів у сироватці крові (табл. 1).

Виявлений протягом дослідження дисбаланс цитокинової регуляції, що зберігається у хворих на гострий ГВ із супутнім хронічним алкогольним ураженням печінки у період реконвалесценції, на нашу думку, відіграє певну роль у затримці одужання цих хворих. Це підтверджується триваючим більш вираженим синдромом цитолізу печінкових клітин у цей період. У реконвалесценцію на фоні нормалізації рівня загального білірубину у більшості пацієнтів обох груп зниження активності АлАТ у сироватці крові хворих I-Б групи відбувалось повільніше, ніж у пацієнтів II групи. Активність цього ферменту в зазначений період залишалась вищою ( $p < 0,05$ ) у пацієнтів I-Б групи і склала  $2,33 \pm 0,17$  проти  $1,82 \pm 0,07$  ммоль/год.л хворих II групи.

Про затримку одужання хворих I-Б групи, порівняно з пацієнтами II групи, свідчать також результати маркерного профілю пацієнтів. Так, у хворих I-Б групи частіше ( $\chi^2=10,26$ ,  $p < 0,05$ ) зберігалась циркуляція в крові НВsAg (100 проти 64,3%) та рідше ( $\chi^2=6,05$ ,  $p < 0,05$ ) реєстрували сероконверсію з появою anti-HBeAg у сироватці крові (45,5 проти 76,1%), ніж у хворих II групи.

Відомості сучасної наукової літератури свідчать про значну роль взаємодій між про- та протизапальними цитокінами в перебігу вірусних гепатитів [6]. Відомо про їх взаємний вплив на продукцію відповідних цитокінів: ІЛ-6 пригнічує вироблення TNF- $\alpha$ , надаючи тим самим протизапальну дію та завершуючи формування запального процесу [6]. До того ж, в умовах окисного стресу переважають процеси нерегульованої модифікації білків, що призводить до втрати їх біологічної активності, вони генерують нові антигени й негативно впливають на імунну відповідь [7]. Вживання алкоголю збільшує продукцію активних форм кисню, знижує рівень антиоксидантів і підвищує окисний стрес, збільшуючи токсичні впливи вільних радикалів [8]. Прозапальні цитокіни індукують гострофазові показники,

Таблиця 1

Показники вмісту цитокінів у хворих на гострий ГВ у динаміці захворювання на фоні базисного лікування залежно від наявності супутнього хронічного алкогольного ураження печінки (M $\pm$ m)

Група	Здорові люди (n=20)	Хворі на гострий ГВ (n=64)			
		I-Б група (n=22)		II група (n=42)	
		при надходженні	при виписці	при надходженні	при виписці
ІЛ-2, пк/мл	4,59 $\pm$ 0,83	6,73 $\pm$ 0,60* ..	3,13 $\pm$ 0,57 ** ...	11,05 $\pm$ 1,53 *	6,64 $\pm$ 0,80 * ...
TNF- $\alpha$ , пк/мл	2,95 $\pm$ 0,12	3,67 $\pm$ 0,34 *	1,83 $\pm$ 0,23 * ...	3,96 $\pm$ 0,20 *	3,73 $\pm$ 0,18 *
ІЛ-6, пк/мл	0,73 $\pm$ 0,10	1,20 $\pm$ 0,11 *	2,04 $\pm$ 0,14 * ...	1,06 $\pm$ 0,08 *	0,69 $\pm$ 0,04***
ІЛ-8, пк/мл	1,13 $\pm$ 0,06	7,29 $\pm$ 0,68 * ..	2,35 $\pm$ 0,03 * ...**	5,83 $\pm$ 0,25 *	1,90 $\pm$ 0,15***

Примітки: \* – різниця достовірна порівняно зі здоровими людьми ( $p < 0,05$ ); \*\* – з показниками пацієнтів II групи ( $p < 0,05$ ); \*\*\* – з показниками при надходженні ( $p < 0,05-0,001$ ).



зокрема оксид азоту, що є захисною реакцією, оскільки, як показано в сучасних дослідженнях, він здатний інгібувати реплікацію ряду вірусів. Система цитокінів та оксиду азоту бере участь у механізмі ураження печінки при гострій вірусній інфекції та тривалій персистенції гепатотропних вірусів [9]. При цьому єдиним субстратом для синтезу оксиду азоту є L-аргінін – відносно незамінна амінокислота, особливо в умовах патології [10]. Шлях L-аргінін – оксид азоту відіграє головну роль у підтримці запальної відповіді, апоптозу та захисті від вільно-радикального ураження [11]. При запальних процесах ендогенний синтез L-аргінину не забезпечує фізіологічні потреби. Недостатність субстрату L-аргінину призводить до посилення утворення пероксинітриду, що характеризується цитотоксичною дією та ушкоджує гепатоцити [12].

У зв'язку із зазначеним та з метою удосконалення патогенетичного лікування хворих на гострий ГВ із супутнім хронічним алкогольним ураженням печінки в період розпалу додатково до базисної терапії призначали тівортін (L-аргінін) та тіотріазолін (I-A група). У період розпалу гострого ГВ середні показники основних біохімічних параметрів, вміст показників цитокінового статусу у хворих I-A групи до призначення лікування статистично не відрізнялись ( $p > 0,05$ ) від відповідних параметрів хворих I-B групи.

Період реконвалесценції супроводжувався зниженням ( $p < 0,05 - 0,001$ ) вмісту досліджуваних цитокінів у сироватці крові хворих I-A групи, порівняно з відповідними показниками в період розпалу гострого ГВ. У хворих I-A групи в період реконвалесценції відзначено тенденцію до нормалізації вмісту цитокінів, на відміну від пацієнтів I-B групи. Порівняльний аналіз показав, що при виписці зі стаціонару у хворих I-A групи вміст ІЛ-2 у сироватці крові залишався більшим ( $p < 0,05$ ), ніж у пацієнтів I-B групи та не відрізнявся ( $p > 0,05$ ) від аналогічного показника здорових людей (табл. 2).

Таблиця 2

**Порівняння вмісту цитокінів у хворих на гострий ГВ на фоні супутнього хронічного алкогольного ураження печінки залежно від лікування ( $M \pm m$ )**

Група Показник	Здорові люди (n=20)	Хворі на гострий ГВ (n=43)	
		I-A група (n=21)	I-B група (n=22)
ІЛ-2, пк/мл	4,59±0,83	4,38±0,24 <sup>**</sup> ...	3,13±0,57 <sup>***</sup>
TNF-α, пк/мл	2,95±0,12	2,42±0,15 <sup>*</sup> ...	1,83±0,23 <sup>*</sup> ...
ІЛ-6, пк/мл	0,73±0,10	1,55±0,16 <sup>*</sup> ...	2,04±0,14 <sup>*</sup> ...
ІЛ-8, пк/мл	1,13±0,06	1,46±0,15 <sup>*</sup> ...	2,35±0,03 <sup>*</sup> ...

*Примітки:* \* – різниця достовірна порівняно зі здоровими людьми ( $p < 0,05 - 0,01$ ); \*\* – з показниками пацієнтів I-B групи ( $p < 0,05 - 0,01$ ); \*\*\* – з показниками при надходженні ( $p < 0,05 - 0,001$ ).

Порівняння виразності цитолітичного синдрому в період реконвалесценції показало меншу ( $p < 0,05$ ) активність АлАТ у сироватці крові у пацієнтів, які додатково отримали курс лікування тівортіном і тіотріазоліном. Активність цього фер-

менту в зазначений період склала  $1,84 \pm 0,09$  проти  $2,33 \pm 0,17$  ммоль/год.л відповідно до хворих I-A та I-B груп.

Аналіз сероконверсії з появою anti-HBeAg в сироватці крові показав найчастіше ( $\chi^2 = 7,67$ ,  $p < 0,01$ ) появу цих антитіл у пацієнтів, які лікувались тівортіном і тіотріазоліном: у 18 (84,6%) проти 10 (45,5%) пацієнтів, які отримали базисну терапію на фоні супутнього хронічного алкогольного ураження печінки.

Кореляційний аналіз дозволив зареєструвати пряму кореляцію між активністю АлАТ у сироватці крові та вмістом ІЛ-6 ( $r = +0,34$ ,  $P < 0,05$ ), TNF-α ( $r = +0,76$ ,  $P < 0,01$ ); між вмістом ІЛ-2 та ІЛ-8 ( $r = +0,68$ ,  $P < 0,05$ ). Крім того, виявлено зворотну кореляцію між активністю АлАТ в сироватці крові та показниками ІЛ-2 ( $r = -0,37$ ,  $P < 0,05$ ).

В експериментальних і клінічних дослідженнях доведено, що L-аргінін характеризується імуномодулюючими й антиоксидантними властивостями, підвищує артеріальний кровотік у печінці, зменшує венозний опір у системі порталної вени, нормалізує печінкову оксигенацію, запобігає гіпоксії гепатоцитів, прискорює розщеплення вільних радикалів, що покращує детоксикаційну функцію гепатоцитів, до того ж, за рахунок підтримки печінкового кровообігу впливає на обмін колагену та зменшує тяжкість фіброзу печінки [13,14]. Доведено, що HBV перебігає на фоні підвищеного рівня оксиду азоту, що перешкоджає активації цитокінами синтезу молекул адгезії, виявляє захисну дію, виступаючи в якості фактора антиоксидантної активності, проявляє цитопротективну, протизапальну і антимікробну дію, інгібує агрегацію тромбоцитів [8,9].

Основним механізмом дії тіотріазоліну є покращення утворення та витрат енергії, відновлення балансу між вільнорадикальним окисленням і антиоксидантним захистом, завдяки чому тіотріазолін відповідає вимогам до метаболічних протекторних препаратів, оскільки є антиоксидантом, мембраностабілізатором, імуномодулятором, характеризується протішемічними, протизапальними, антитоксичними властивостями, стимулює регенерацію клітин [15]. Тіотріазолін знижує ступінь жирової інфільтрації, сприяє процесу репаративної регенерації гепатоцитів і нормалізує в печінці білковий, вуглеводний, ліпідний обмін, а також має певний імуномодулюючий вплив на імунну систему [15,16].

## ВИСНОВКИ

1. У хворих на гострий гепатит В із супутнім хронічним алкогольним ураженням печінки в динаміці захворювання вираженіший дисбаланс цитокінової регуляції за рахунок нижчого вмісту інтерлейкіну-2 ( $p < 0,05$ ) та вищого вмісту інтерлейкіну-8 ( $p < 0,05$ ) в сироватці крові, порівняно з пацієнтами без супутнього ураження печінки, що виявляється в період розпалу та зберігається у період реконвалесценції на фоні базисного патогенетичного лікування.

2. У період реконвалесценції у хворих на гострий гепатит В із супутнім хронічним алкогольним ураженням печінки частіше ( $\chi^2 = 10,26$ ,  $p < 0,05$ ) зберігається циркуляція HBsAg (100 проти 64,3 %), рідше ( $\chi^2 = 6,05$ ,  $p < 0,05$ ) реєструється сероконверсія з появою anti-HBeAg в сироватці крові



(45,5 проти 76,1%), вищим ( $p < 0,05$ ) залишається показник цитолізу печінкових клітин, порівняно з пацієнтами без супутнього ураження печінки.

3. Додаткове включення до базисної терапії хворих на гострий гепатит В із супутнім хронічним алкогольним ураженням печінки L-аргініну та тіотриазоліну пришвидшує відновлення цитокинового балансу, запального процесу в печінці та збільшує частоту сероконверсії з появою в крові anti-HBeAg ( $\chi^2=7,67$ ,  $p < 0,01$ ).

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Зайцев И.А. Естественное течение вирусного гепатита В / И.А. Зайцев, Л.С. Бондарев., В.А. Мирошниченко // Сучасна гастроентерологія. – 2007. – №1. – С. 81–86.
2. Маевская М.В. Цитокины в патогенезе алкогольного гепатита и возможности терапии / М.В. Маевская // РЖГГК. – 2009. – №2. – С. 14–19.
3. Малий В.П. Динаміка цитокинового профілю у пацієнтів з гострим і хронічним гепатитом В залежно від встановленого генотипу HBV / В.П. Малий, М.А. Тимкович // Інфекційні хвороби – 2006. – №4. – С. 34–37.
4. Соціальна медицина та організація охорони здоров'я / Під ред. Ю. Вороненка, В. Москаленко. – Тернопіль: «Укрмедкнига», 2000. – 680 с.
5. Пат. 67226 Україна, МПК (2012.01) А 61 К 31/00. Спосіб комплексного лікування гострого вірусного гепатиту В на тлі супутнього алкогольного ураження печінки / Фурик О.О., Рябоконт О.В. – № U201108411; заявл. 04.07.11; опубл. 10.02.12., Бюл. №3.
6. Иванова М.Р. Цитокиновый профиль у больных острыми вирусными гепатитами В и С / М.Р. Иванова, Р.Х. Жемухова // Клиническая лабораторная диагностика – 2009. – №3, С. 41–43.
7. Wuttge D.M. T-cell recognition of lipid peroxidation products breaks tolerance to self proteins / D.M. Wuttge, M. Bruzelius, S. Stemme // Immunology. – 1999. – Vol. 98 (2). – P. 273–279.
8. Hye-Lin. Oxidative stress and antioxidants in hepatic pathogenesis / Hye-Lin, Hye-Jun Shin, Mark A. Feitelson // World Journal of Gastroenterology. – 2010. – №16 (48). – P. 6035–6043.
9. Мороз Л.В. Рівень цитокинів ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6 та нітратів і нітритів у плазмі крові хворих на вірусні гепатити та цироз печінки / Л.В. Мороз // Сучасна гастроентерологія. – 2001. – №1. – С. 66–67.
10. Tousoulis D. Mechanisms of disease: L-arginine in coronary atherosclerosis clinical perspective / D. Tousoulis, R.H. Boger, C. Antoniades // Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med. – 2007. – Vol. 4. – P. 274–283.
11. Lyons C.R. The role of nitric oxide in inflammation / C.R. Lyons // Adv. – 1995. – Vol. 60. – P. 323–371.
12. Morris C.R. Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and mortality in sickle cell disease / C.R. Morris, G.J. Kato, M. Poljakovic // JAMA. – 2005. – Vol. 294. – P. 81–90.
13. Leung T.M. Endothelial nitric oxide synthase is a critical factor in experimental liver fibrosis / T.M. Leung et al. // Int. J. Exp. Pathol. – 2008. – Vol. 89 (4). – P. 241–250.
14. Ijaz S. The effect of consecutively larger doses of L-arginine on hepatic microcirculation and tissue oxygenation in hepatic steatosis / S. Ijaz, M.C. Winslet, A.M. Seifalian // Microvascular Research. – 2009. – Vol. 78. – P. 206–210.
15. Каюмов У.К. Новые перспективы применения тиотриазолина в общеврачебной практике / У.К. Каюмов // Запорожский медицинский журнал. – 2010. – №5. – С. 34–36.
16. Приходько В.Ю. Метаболическая терапия в клинической практике / В.Ю. Приходько, И.П. Микропуло, Н.А. Масленникова // Сучасні препарати і технології. – 2011. – №1. – С. 80–85.

#### Відомості про авторів:

Фурик О.О., асистент каф. інфекційних хвороб ЗДМУ.

Рябоконт О.В., д. мед. н., професор, зав. каф. інфекційних хвороб ЗДМУ.

Поступила в редакцію 20.07.2012 г.