

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

РІВНІ ІL-17A, ІР-10 В СИРОВАТЦІ КРОВІ У ПАЦІЄНТІВ З НВУ-ІНФЕКЦІЄЮ ТА НВУ/НІУ-КОІНФЕКЦІЄЮ У ЗАХІДНІЙ ПРОВІНЦІЇ ЗАМБІЇ

Л. В. Мороз, С. Ч. Соні, Т. І. Бевз, К. Д. Чічірельо-Константинович

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова,
м. Вінниця, Україна

Зв'язок з авторами: Мороз Лариса Василівна, проф., д. мед. н., завідувач кафедри інфекційних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; тел.: +380965363123; e-mail:larisa652002@yahoo.com.

В статті піднята проблема специфічного дослідження зразків крові пацієнтів з НВУ-інфекцією та НВУ/НІУ-коінфекцією, які знаходились на диспансерному обліку в Lewanika General Hospital (Замбія), на визначення рівнів ІL-17A, ІР-10 та їх залежність від активності запального процесу та кількості CD-4-лімфоцитів.

Ключові слова: НІУ-інфекція, НВУ-інфекція, ІL-17A, ІР-10, коінфекція, CD-4-лімфоцити, активність запального процесу, цитоліз, Західна провінція Замбії.

УРОВНИ ІL-17A, ІР-10 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С НВУ-ИНФЕКЦИЕЙ И НВУ/НІУ-КОИНФЕКЦИЕЙ В ЗАПАДНОЙ ПРОВИНЦИИ ЗАМБИИ

Л. В. Мороз, С. Ч. Сони, Т. И. Бевз, К. Д. Чичирельо-Константинович

Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова,
г. Винница, Украина

В статье поднята проблема специфического исследования образцов крови пациентов с НВУ-инфекцией и НВУ/НІУ-коинфекцией, которые находились на диспансерном учете в Lewanika General Hospital (Замбия), на определение уровней ІL-17A, ІР-10 а также их зависимость от активности воспалительного процесса и количества CD-4-лимфоцитов.

Ключевые слова: НІУ-инфекция, НВУ-инфекция, ІL-17A, ІР-10, коинфекция, CD-4-лимфоциты, активность воспалительного процесса, цитоліз, Западная провинция Замбии.

IL-17A, IP-10 LEVELS IN BLOOD SERUM SAMPLES OF HBV/HIV PATIENTS IN WEST ZAMBIA PROVINCE

L. V. Moroz, S. Ch. Soni, T. I. Bevz, K. D. Chichirelo-Konstantynovych

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine

The article describes the problem of specific analysis of blood serum samples of HBV-monoinfected and HBV/HIV-coinfected patients, who were treated in Zambian Lewanika General Hospital, for IL-17A, IP-10 and their dependence on the activity of inflammation process and CD4-lymphocytes count.

Key words: HIV-infection, HBV-infection, IL-17A, IP-10, coinfection, CD4-lymphocytes, activity of inflammation process, West Zambia province.

Вступ. Вірусний гепатит В (HBV) та HIV-інфекція залишаються однією з найактуальніших проблем охорони здоров'я у світі [1, 2]. За даними ВООЗ, близько 1% HBV-інфікованих мають також HIV-інфекцію, в свою чергу, поширеність HBV-інфекції серед HIV-інфікованих людей складає 7,4%. Країни суб-сахарної Африки знаходяться на перехресті високої ендемічності цих інфекцій [2, 3, 4].

Наявність коінфекції HBV/HIV значно ускладнює перебіг обох захворювань. HIV-інфекція посилює реплікацію вірусу HBV-інфекції, одночасно інгібуючи сероконверсію (продуктування ab-HBeAg), що призводить до швидкого фіброзоутворення в печінці. HBV/HIV-коінфікування призводить до втрати імунної толерантності [5, 6]. Гостра HIV-інфекція веде до серйозного виснаження клітин лімфоїдної тканини (в першу чергу, Т-лімфоцитів пам'яті), що сприяє епітеліальному ушкодженню і призводить до потрапляння мікробних антигенів, переважно ліпополісахаридів (ЛПС), в системний кровоток.

Отже, особи з HIV-інфекцією мають значно вищий системний рівень мікробних продуктів у порівнянні з HIV-неінфікованими особами [7, 8, 9]. Прогресування фіброзу печінки також сприяє підвищенню рівня мікробних антигенів та активації імунної відповіді організму [8]. У печінці ЛПС зв'язуються з TLR-4 на клітинах Купффера та гепатоцитах, що ініціює секрецію прозапальних і фіброгенних цитокінів [9, 11, 12]. Доведено, що деякі прозапальні цитокіни асоціюються з хронічним запаленням в печінці і мають важливе значення у формуванні гепатокарциноми (ГЦК) [13]. Збільшення рівня ЛПС сприяє зростанню продукції прозапальних цитокінів, при цьому знижується секреція потенційно захисних протизапальних цитокінів, таких як IL-17A та IP-10. Отже, приєднання HIV-інфекції сприяє посиленню фіброзу HBV-етіології, що призводить до швидкого розвитку цирозу та ГЦК і, в кінцевому підсумку, до високої смертності серед даної когорти пацієнтів. Тому визначення показників імунного захисту є над-

звичайно важливим для прогнозування перебігу цих інфекцій а також для вибору подальшої тактики ведення та лікування інфікованих.

Мільйони інфікованих, сотні тисяч померлих щороку, тисячі нових випадків інфікування щодня – все це змушує людство шукати нові шляхи для вирішення даної проблеми.

Мета дослідження.

Оцінити рівні ІЛ-17А, ІР-10 в сироватці крові хворих з конфекцією HBV/HIV залежно від ступеня активності запального процесу та стадії HIV-інфекції.

Матеріали та методи.

В дослідження було включено 41 пацієнт з HBV-моноінфекцією та 53 пацієнти з HBV/HIV-коінфекцією, які знаходились на диспансерному обліку гепатологічного відділення Lewanika General Hospital (Замбія). Середній вік по групі склав $(47,7 \pm 10,3)$ років. До контрольної групи входили 24 здорових респонденти, що були репрезентативні по віку і статі. Для визначення активності запального процесу оцінювались показники активності трансаміназ – аланінамінотрансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ) уніфікованими методами Райтмана-Френкеля та лактатдегідрогенази (ЛДГ) методом Севела-Товарека. Рівень активності запального процесу розцінювали за кількісним вмістом АЛТ в сироватці крові за наступною формулою: низька активність запального процесу визначалась при $АЛТ < 5N$, середня – $5-10N$, висока – $> 10N$, де N – верхня межа норми АЛТ, яка для чоловіків становить 41 Од/л,

для жінок – 31 Од/л. Кількість CD-4-лімфоцитів визначалась методом точної цитометрії. Дані дослідження здійснювались на базі лабораторії Lewanika General Hospital (Замбія). Вміст ІР-10 (Interferon-gamma inducible Protein 10 kDa) та інтерлейкіну 17А (ІЛ-17А) в сироватці крові визначали імуноферментним методом (ELISA) з використанням наборів “Human IP-10 ELISA Kit” (Diacclone, Франція) та “Human IL-17A ELISA Kit” (Diacclone, Франція) у відповідності до інструкції фірми-виробника в лабораторії кафедри біохімії ВНМУ ім. М.І. Пирогова.

Отримані результати були зведені в електронні таблиці «Microsoft Excell 2017» та проаналізовані з використанням програмного забезпечення «STATISTICA 6,0» (належить ЦНІТ ім. М. І. Пирогова, ліцензійний № АХХR910A374605FA). Статистичну вірогідність вважали валідною при значенні похибки $p < 0,05$ (за критерієм Ст'юдента).

Результати дослідження.

В загальній популяції рівень ІЛ-17А склав $4,83 \pm 0,53$ пг/мл, рівень ІР-10 склав $70,5 \pm 3,74$ пг/мл.

Згідно отриманих даних, рівень ІЛ-17А в сироватці крові хворих з коінфекцією HBV/HIV мешканців Західної провінції Замбії був в 6,42 рази вищим, ніж у здорових осіб, та в 1,55 рази вищим в порівнянні з групою пацієнтів з моноінфекцією HBV (табл.1). У останніх рівень даного показника був вищим в 4,13 рази ніж у здорових.

Рівень хімокіну ІР-10 в сироватці крові коінфікованих пацієнтів також

перевищував показник серед здорових осіб, однак ця різниця була більшою та складала 8,34 рази (табл. 1). В групі хворих з коінфекцією рівень IP-10 в сироватці крові був вищим в 1,49 рази ніж в групі з моноінфекцією. У пацієнтів з HBV також спостерігався підвищений в 5,59 рази рівень IP-10 в сироватці крові в порівнянні зі здоровими особами, які проживають в Західній провінції Замбії.

Нами не було виявлено достовірної різниці в рівнях IL-17A та IP-10 в сироватці крові в залежності від статі серед коінфікованих пацієнтів. Різниця за віком була лише на рівні тенденції ($p=0,07$).

Проведений аналіз змін рівня IL-17A в сироватці крові при різних ступенях активності запального процесу (цитолізу) показав достовірне зростання рівня IL-17A в сироватці крові

відповідно збільшенню активності запального процесу ($p<0,05$). Так, у хворих на коінфекцію з високим ступенем активності запального процесу рівень даного показника був в 5,88 рази вищим, ніж у хворих з низькою активністю. (табл. 2). Серед пацієнтів з середнім ступенем рівень IL-17A в сироватці крові був в 3,96 рази вищим.

Рівень IL-17A в сироватці крові у коінфікованих при всіх ступенях запального процесу (цитолізу) був достовірно вищим в порівнянні з моноінфікованими. Так, в групі коінфікованих пацієнтів з високим ступенем ця різниця була в 1,56 рази, а при низький – 1,49 рази.

Подібна картина спостерігалася стосовно рівня IP-10 в сироватці крові, що також зростав відповідно підвищенню ступеня активності запального процесу у коінфікованих пацієн-

Таблиця 1.

Рівні IL-17A, IP-10 в сироватці крові у пацієнтів з HBV-інфекцією, HBV/HIV-коінфекцією та здорових донорів Замбії

Показники	IL-17A (пг/мл)	IP-10 (пг/мл)
Здорові (n=24)	4,83±0,53	70,5±3,74
Інфіковані HBV (n=41)	19,99±1,34	394,12±25,41
Інфіковані HBV/HIV (n=53)	31,04±2,05	588,46±25,59

Примітка: * $p<0,05$ між групами порівняння

Таблиця 2.

Рівень IL-17A, IP-10 у HBV/HIV-інфікованих донорів Замбії з різним ступенем активності запального процесу

Показники активності запального процесу	IL-17A (пг/мл)	IP-10 (пг/мл)
низька	5,97±1,52	78,69±5,44
середня	23,67±1,92	414,42±27,31
висока	35,11±2,74	602,55±23,73

Примітка: * $p<0,05$ між групами порівняння

тів. При наявності високого ступеня рівень IP-10 в сироватці крові хворих з коінфекцією був в 8,35 рази вищим в порівнянні з низькою активністю. При середньому ступені активності запального процесу різниця була меншою в 5,59 рази (табл. 3).

Рівень IP-10 в сироватці крові у пацієнтів з коінфекцією був достовірно вищим незалежно від ступеня активності запального процесу. Так, при високому ступені активності запального процесу рівень IP-10 в сироватці крові в групі пацієнтів з коінфекцією був в 1,15 рази вищим в порівнянні з моноінфекцією. При низькому ступені активності запального процесу різниця була в 1,22 рази вища серед коінфікованих пацієнтів.

Нами було зафіксовано зміну показників, що досліджувалися, у пацієнтів з коінфекцією при різних рівнях CD4. Рівень IL-17A в сироватці крові у коінфікованих пацієнтів при наявності 1 стадії HIV-інфекції був в 1,55 рази нижчим, ніж за наявності 2 стадії (табл. 4). Спостерігалось також зниження рівня IP-10 в сироватці крові в групі пацієнтів з коінфекцією при 1 стадії HIV-інфекції в 1,72 рази.

ентів з коінфекцією при різних рівнях CD4. Рівень IL-17A в сироватці крові у коінфікованих пацієнтів при наявності 1 стадії HIV-інфекції був в 1,55 рази нижчим, ніж за наявності 2 стадії (табл. 4). Спостерігалось також зниження рівня IP-10 в сироватці крові в групі пацієнтів з коінфекцією при 1 стадії HIV-інфекції в 1,72 рази.

Висновки:

1. У HBV/HIV-коінфікованих пацієнтів західної провінції Замбії спостерігалось зростання рівнів IL-17A та IP-10 у 3,81 та 5,31 рази відповідно.

2. Рівень IL-17A та IP-10 зростав відповідно ступеню активності запального процесу.

3. Встановлено зменшення рівнів IL-17A та IP-10 в 1,55 та 1,72 рази відповідно при збільшенні кількості CD4-клітин.

Таблиця 3.

Рівень IL-17A, IP-10 у HBV-інфікованих донорів Замбії з різним ступенем активності запального процесу

Показники активності запального процесу	IL-17A (пг/мл)	IP-10 (пг/мл)
низька	4,0±0,22	64,4±2,28
середня	18,3±2,21,34	227,15±21,14
висока	22,45±1,08	521,19±21,28
p	0,007	0,006

Таблиця 4.

Середні значення IL-17A, IP-10 серед HBV/HIV-інфікованих донорів Замбії залежно від стадії ВІЛ-інфекції

Рівень CD4	IL-17A, пг/мл	IP-10, пг/мл
1 стадія (≥500 клітин/мкл) (n=33)	25,37±1,39	431,16±22,48
2 стадія (200-499 клітин/мкл) (n=6)	39,13±1,88	742,91±26,21
3 стадія, СНІД (<200 клітин/мкл) (n=1)	53,2	916,3
Невстановлена стадія (рівень CD4 невідомий) (n=13)	31,49±2,36	647,85±35,82

Примітка: *p<0,05 між групами порівняння

ЛІТЕРАТУРА

1. Wandeler, G., Mulenga, L., Vinikoor, M. J., Kovari, H., Bategay, M., Calmy, A., ... & Sinkala, E. (2016). Liver fibrosis in treatment-naïve HIV-infected and HIV/HBV co-infected patients: Zambia and Switzerland compared. *International Journal of Infectious Diseases*, 51, 97-102.
2. Yanmei Jiao, Ning Li, Xinyue Chen, Tong Zhang, Hongjun Li, Wei Li, Xiaojie Huang Zhiying Liu, Yonghong Zhang, Hao Wu. Acute HIV Infection Is Beneficial for Controlling Chronic Hepatitis B. *Clinical Infectious Diseases*, Volume 60, Issue 1, 1 January 2015, Pages 128–134
3. Tongai Gibson Maponga, Monique I. Andersson, Christoffel J. van Rensburg, Joop E. Arends, Jantjie Taljaard, Wolfgang Preiser, and Richard H. Glashoff. HBV and HIV viral load but not microbial translocation or immune activation are associated with liver fibrosis among patients in South Africa. *BMC Infect Dis*. 2018; 18: 214.
4. Matthews, P. C., Beloukas, A., Malik, A., Carlson, J. M., Jooste, P., Ogwu, A., ... & Jaggernath, M. (2015). Prevalence and characteristics of hepatitis B virus (HBV) coinfection among HIV-positive women in South Africa and Botswana. *PLoS One*, 10(7), e0134037. doi: 10.1371/journal.pone.0134037.
5. Maponga, T. G., Andersson, M. I., Van Rensburg, C. J., Arends, J. E., Taljaard, J., Preiser, W., & Glashoff, R. H. (2018). HBV and HIV viral load but not microbial translocation or immune activation are associated with liver fibrosis among patients in South Africa. *BMC infectious diseases*, 18(1), 214. doi: 10.1186/s12879-018-3115-8.
6. B. Cai, J. Zhang, J. Chen, Y. Liao, Q. Zhang, C. Tao, L. Wang. Circulating IL-17 and IP-10 as Potential Factors to Influence HBV Infection Outcome. *Journal of Hepatology* 2016, Volume 64, Issue 2, Supplement, Page S585
7. L. A. Ramirez, T. A. Arango, E. Thompson, M. Naji, P. Tebas, and J. D. Boyer. High IP-10 levels decrease T cell function in HIV-1-infected individuals on ART. *Journal of Leukocyte Biology* 2014 Dec; 96(6): 1055–1063.
8. Zhao, K., Yang, T., Sun, M., Zhang, W., An, Y., Chen, G., ... & Song, W. (2017). IP-10 Expression in Patients with Chronic HBV Infection and Its Ability to Predict the Decrease in HBsAg Levels after Treatment with Entecavir. *Molecules and cells*, 40(6), 418.
9. Sachiyo Yoshio, Yohei Mano, Hiroyoshi Doi, Hirotaka Shoji, Tomonari Shimagaki, Yuzuru Sakamoto, Hironari Kawai, Michitaka Matsuda, Taizo Mori, Yosuke Osawa, Masaaki Korenaga, Masaya Sugiyama, Masashi Mizokami, Eiji Mita, Keiko Katayama, Junko Tanaka, and Tatsuya Kanto. Cytokine and chemokine signatures associated with hepatitis B surface antigen loss in hepatitis B patients. *JCI Insight*. 2018;3(20):e122268.
10. Wang, J., Liu, Y., Xie, L., Li, S., & Qin, X. (2016). Association of IL-17A and IL-17F gene polymorphisms with chronic hepatitis B and hepatitis B virus-related liver cirrhosis in a Chinese population: a case-control study. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology*, 40(3), 288-296.
11. José M. Rojas, Miguel Avia, Verónica Martín, and Noemí Sevilla. IL-10: A Multifunctional Cytokine in Viral Infections. *Journal of Immunology Research*, Volume 2017, Article ID 6104054, 14 pages
12. Saudy, N., Shahin, D., Zakaria, S., Salam, A. A., & Houssen, M. E. (2015). Serum Interferon-gamma inducible protein-10: a possible player in progression of Hepatitis B Virus related chronic liver diseases. *International Journal*, 3(7), 602-611.
13. Stockdale, A. J., Phillips, R. O., & Geretti, A. M. (2016). The gamma-glutamyl transpeptidase to platelet ratio (GPR) shows poor correlation with transient elastography measurements of liver fibrosis in HIV-positive patients with chronic hepatitis B in West Africa. Response to: 'The gamma-glutamyl transpeptidase to platelet ratio (GPR) predicts significant liver fibrosis and cirrhosis in patients with chronic HBV infection in West Africa' by Lemoine et al. *Gut*, 65(5), 882-884. doi: 10.1136/gutjnl-2015-311133.