

**СТАН КЛІТИННОЇ, ГУМОРАЛЬНОЇ ЛАНОК ІМУНІТЕТУ
ТА ЦИТОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ КРОВІ У ХВОРИХ НА
НЕАЛКОГОЛЬНИЙ СТЕАТОГЕПАТИТ У СПОЛУЧЕННІ З
ХРОНІЧНИМ БРОНХІТОМ ТА ОЖИРІННЯМ**

Л.М. Іванова, К.К. Налапко, Ю.В. Сидоренко,
О.А. Холіна, В.Л. Васильєва

ДЗ «Луганський державний медичний університет»

Вступ

У структурі захворюваності значну роль відіграє сполучена патологія, яка зустрічається в 25,6%-41,7% випадків, негативно впливаючи на клінічний перебіг та прогноз захворювань [2, 6]. За даними епідеміологічних досліджень, частота виявлення неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ) складає в середньому 23%, в тому числі в Україні за останні 5 років захворюваність на стеатогепатит підвищилась на 76,5%, а розповсюдженість зросла в 2,2 рази [3, 5, 9, 13]. Аліментарне ожиріння як самостійне захворювання обміну речовин, асоціюється з гіперінсулінемією, інсулінорезистентністю, а адипоцитокіни, які експерсуються жировою тканиною, можуть надавати як про-, так і протизапальні ефекти [1, 2, 3]. Водночас одним із захворювань, з яким часто поєднується НАСГ, є хронічний бронхіт (ХБ), розповсюдженість якого коливається від 10 до 20% [6, 11]. При цьому як в стабільності, так і в дестабілізації гепатобіліарної та дихальної систем суттєва роль належить стану клітинної та гуморальної ланок імунітету [4, 8], продукції цитокінів [7, 12].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження виконано відповідно до основного плану науково-дослідних робіт ДЗ «Луганський державний медичний університет» та є фрагментом теми кафедри пропедевтики внутрішньої медицини: «Медична реабілітація хворих зі сполученою патологією» (№ держреєстрації 0109U004608).

Мета дослідження: визначити імунні ланцюги патогенезу неалкогольного стеатогепатиту, сполученого з хронічним бронхітом та ожирінням.

Матеріали та методи дослідження

Обстежено 120 хворих на НАСГ у поєднанні з ХБ та ожирінням (жінок 69 - 62%, чоловіків – 45 - 38%), віком від 23 до 75 років з тривалістю поєднаної патології від 1 до 12 років. Для визначення референтної норми було обстежено 35 практично здорових осіб, вік і стать яких відповідали аналогічним показникам хворих. З числа досліджених хворих було сформовано дві групи, рандомізовані за віком, статтю, тривалістю та частотою загострень НАСГ: основна (68 осіб) та зіставлення (52 особа).

Верифікацію НАСГ здійснювали відповідно до вимог Наказу МОЗ України від 13.06.2005 року № 271 «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Гастроентерологія». Верифікація діагнозу ХБ (за МКХ-10 код J 41.0) здійснювалася відповідно до вимог Наказу МОЗ України від 19.03.2007 р. № 128 «Про затвердження клінічних протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Пульмонологія». Антропометричні дослідження включали вимірювання росту, маси тіла, окружності талії та об'єму стегон. Для оцінки маси тіла був використаний індекс маси тіла (ІМТ) – індекс Кетле. У дослідження були включені пацієнти тільки з аліментарно-конституційним типом ожиріння (МКХ-10 код E 66.0).

Імунологічні дослідження включали вивчення показників клітинної та гуморальної ланок імунітету, цитокінового профілю крові (ЦПК). Стан клітинної ланки імунітету - кількість загальної популяції Т- (CD3+) та В-лімфоцитів (CD22+), субпопуляцій Т-хелперів/індукторів (CD4+) та Т-супресорів/кілерів (CD8+) у периферичній крові у цитотоксичному тесті із застосуванням комерційних моноклональних антитіл (МКАТ) класів CD3+, CD4+, CD8+, CD22+ виробництва НВЦ «МедБиоСпектр» (РФ-Москва). Виразювався імунорегуляторний індекс CD4/CD8, що трактувався як співвідношення Т-лімфоцитів з хелперною та супресорною активністю (Th/Ts). Оцінка виявлених зсувів здійснювалася методом «імунологічного компасу» [10]. Функціональна активність Т-лімфоцитів вивчалася за допомогою реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ) при постановці її мікрометодом. Концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові вивчали методом преципітації в розчині поліетиленгліколю (ПЕГ) з молекулярною масою 6000 D. Молекулярний склад ЦІК з визначенням велико-(19>S), середньо-(11S-19S) та дрібномолекулярних (<11S) фракцій шляхом диференційованої преципітації у 2,0%, 3,5% та 6,0% розчинах ПЕГ.

Рівень цитокінів (ЦК) (TNF- α , IL-1 β та IL-4) у сироватці крові визначали методом ІФА з використанням сертифікованих в Україні тест-систем виробництва ТОВ «Протеїновий контур» (РФ-СПб) за інструкцією фірми-виробника.

Статистичну обробку результатів здійснювали на базі обчислювального центру Східно-Українського Національного університету ім. В.Даля за допомогою багатофакторного дисперсійного аналізу з використанням пакетів ліцензійних програм Microsoft Office 97, Microsoft Exel Stadia 6.1/prof та Statistica.

Отримані результати та їх обговорення

Аналіз результатів імунологічного обстеження хворих зі сполученою патологією дозволив встановити, що в періоді загострення НАСГ мали місце вірогідні зсуви з боку імунологічних показників клітинної ланки, які характеризувалися Т-лімфопенією, дисбалансом субпопуляційного складу Т-лімфоцитів переважно за рахунок зниження кількості циркулюючих Т-хелперів/індукторів (CD4+), зменшення імунорегуляторного індексу CD4/CD8 (Th/Ts), а також функціональної активності Т-лімфоцитів за даними РБТЛ.

Абсолютна кількість CD3+-лімфоцитів була знижена в середньому в 1,6 рази ($p < 0,01$). В основній групі рівень CD3+-клітин складає у середньому $46,2 \pm 1,3\%$, в групі зіставлення – $45,9 \pm 1,2\%$, тобто був зниженим в 1,51 та 1,52 рази відповідно до норми.

Кількість CD4+-клітин в обстежених хворих зменшувалась у середньому в 1,4 рази ($31,50,8\%$; $p < 0,01$). Кількість CD4+-лімфоцитів (Т-хелперів/індукторів) у групі зіставлення була в середньому в 1,43 рази нижче за норму у відносному вираженні та в 1,53 рази – в абсолютному ($p < 0,01$). В основній групі хворих відносна кількість Т-хелперів (CD4+) була в 1,43 рази нижче за норму, в абсолютному – в 1,53 рази ($p < 0,001$). Таким чином, в основній групі відзначалося зменшення кількості Т-хелперів/індукторів як у відносному, так й в абсолютному обчисленні.

Рівень лімфоцитів з фенотипами CD8+ у більшості обстежених на НАСГ у сполученні з ХБ та ожирінням знижувався, хоча у частини хворих знаходився у нижньої межі норми. Так, вміст CD8+-клітин (Т-супресори/кілери) у відносному плані дорівнював у середньому $18,6 \pm 0,6\%$, тобто кратність зменшення відносно норми складала 1,2 рази. Кількість Т-супресорів/кілерів в обстежених основної групи та групи зіставлення зменшувалася в 1,21 та 1,19

рази відповідно. Абсолютна кількість CD8+-клітин була помірно знижена в обох групах обстежених ($p < 0,05$). Імунорегуляторний індекс CD4/CD8 був зменшений в середньому в 1,2 рази ($1,69 \pm$

$0,02$ при нормі $2,04 \pm 0,03$; $p < 0,01$). При цьому співвідношення клітин з хелперною та супресорною активністю (CD4/CD8) в основній групі було менше норми в 1,18 рази ($p < 0,01$), у групі зіставлення – в 1,19 рази ($p < 0,001$) (таблиця 1).

Таблиця 1

Показники клітинної ланки імунітету у хворих на НАСГ у сполученні з ХБ та ожирінням ($M \pm m$)

Імунологічні показники	Норма	Основна група (n=68)	Група зіставлення (n=52)	P
CD3+ % г/л	69,8±1,2 1,32±0,04	46,2±1,4** 0,83±0,03***	45,9±1,2** 0,82±0,02***	>0,05 =0,05
CD4+ % г/л	45,6±1,5 0,87±0,03	31,8±0,8** 0,57±0,02***	32,0±0,7** 0,57±0,03***	>0,05 =0,05
CD8+ % г/л	22,3±0,9 0,42±0,02	18,4±0,4** 0,33±0,02*	18,7±0,5** 0,33±0,03*	>0,1 >0,05
CD4/CD8	2,04±0,03	1,73±0,01***	1,71±0,01***	<0,05
CD22+ % г/л	21,6±1,1 0,41±0,02	19,3±1,2* 0,35±0,01*	20,0±1,1 0,36±0,02*	>0,1 >0,05
РБТЛ з ФГА%	69,5±2,3	50,4±1,6**	49,9±1,7**	<0,01

Примітки: в таблиці 1, 3 вірогідність різниці відносно норми * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$; P – вірогідність різниці між хворими із основної групи та групи зіставлення.

Відносна кількість CD22+-лімфоцитів (тотальна популяція В-клітин) у хворих з поєднаною патологією помірно зменшувалась у відносному та суттєво в абсолютному обчисленні відносно норми. Середній рівень CD22+-клітин складав $19,6 \pm 1,4\%$ (при нормі $21,6 \pm 1,3\%$; $p > 0,05$). Абсолютна кількість В-клітин в обстежених хворих була помірно знижена ($p < 0,05$). Число В-клітин у хворих основної групи дорівнювало $19,3 \pm 1,8\%$, в групі зіставлення – $20,0 \pm 1,1\%$ ($p > 0,05$).

У хворих з поєднаною патологією спостерігалось пригнічення функціональної активності Т-лімфоцитів за даними РБТЛ з ФГА, показник якої знижувався в середньому в 1,4 рази до $49,6 \pm 1,6\%$ при нормі $69,5 \pm 2,3\%$ ($p < 0,01$): в основній групі в 1,38 рази, в групі зіставлення – в 1,39 рази ($p < 0,001$).

У хворих на НАСГ у сполученні з ХБ та ожирінням загальний рівень ЦПК у сироватці крові був підвищений в основній групі хворих

в 1,8 рази ($3,42 \pm 0,03$ г/л), в групі зіставлення – в 1,77 рази ($3,35 \pm 0,05$ г/л) ($p < 0,01$). При дослідженні молекулярного складу ЦПК встановлено зростання рівня переважно за рахунок токсикогенних середньо- та дрібномолекулярних фракцій. Вміст середньомолекулярних фракцій був у хворих основної групи в 2,65 рази вище за норму ($1,62 \pm 0,02$ г/л), в групі зіставлення – в 2,57 рази ($1,56 \pm 0,03$ г/л); в той же час концентрація дрібномолекулярних фракцій складала відповідно $1,2 \pm 0,03$ г/л та $1,0 \pm 0,04$ г/л, тобто була в 2,63 та 2,41 рази вище за норму ($p < 0,001$) (табл. 2). Статистично істотних відмінностей цього показника у хворих основної групи та групи зіставлення не спостерігалось ($p > 0,05$).

Таблиця 2

Концентрація ЦПК та їх молекулярний склад у хворих на НАСГ у сполученні з ХБ та ожирінням ($M \pm m$)

Показники	Норма	Групи хворих		P ₂
		Основна (n=68)	Зіставлення (n=52)	
ЦПК г/л	1,88±0,09	3,42±0,03 P ₁ < 0,001	3,35±0,05 P ₁ < 0,01	>0,05
Великомолекулярні ЦПК %	44,5±2,3	30,12±2,0 P ₁ < 0,05	33,44±2,1 P ₁ < 0,05	>0,05
г/л	0,84±0,04	0,6±0,03 P ₁ < 0,05	0,79±0,04 P ₁ > 0,05	>0,05
Середньомолекулярні ЦПК %	30,5±2,0	38,59±2,6 P ₁ < 0,05	36,59±2,2 P ₁ < 0,05	>0,05
г/л	0,57±0,04	1,62±0,02 P ₁ < 0,001	1,56±0,03 P ₁ < 0,01	>0,05
Дрібномолекулярні ЦПК %	25,0±1,6	31,29±2,1 P ₁ < 0,05	29,97±1,7 P ₁ < 0,05	>0,05
г/л	0,47±0,03	1,2±0,03 P ₁ < 0,001	1,0±0,04 P ₁ < 0,01	>0,05

Примітка: P₁ – відображає вірогідність розбіжностей кожного показника стосовно норми; P₂ – вірогідність різниці між відповідними показниками у хворих основної групи та групи зіставлення.

У результаті проведених досліджень виявлено збільшення концентрації прозапальних (IL-1 β , TNF α) та протизапального (IL-4) ЦК у крові хворих на НАСГ у сполученні з ХБ та ожирінням. Порушення ЦПК були однотипними в обох досліджуваних групах (табл. 3).

**Показники ЦПК у хворих на НАСГ
у сполученні з ХБ та ожирінням (M±m)**

Показники	Норма	Основна група (n=68)	Група зіставлення (n=52)	P
IL-1β, пг/мл	23,3±2,1	52,3±3,1**	50,6±2,1**	>0,1
TNFα, пг/мл	5,4±0,3	12,8±1,3**	13,3±1,1**	>0,05
IL-4, пг/мл	47,2±3,4	55,8±2,3*	57,0±2,5*	>0,05

У хворих з поєднаною патологією концентрація прозапальних цитокінів була суттєво підвищена відносно норми. Так, в основній групі IL-1β у середньому в 2,24 рази (p<0,01), TNFα – в 2,4 рази (p<0,01) та в групі зіставлення – в 2,17 і 2,46 рази відповідно (p<0,01). В той же час спостерігалось помірне підвищення концентрації протизапального ЦК IL-4 у крові обстежених хворих (56,1±4,1 пг/мл при нормі 47,2±3,4 пг/мл; p<0,05). Рівень IL-4 в основній групі обстежених становив 55,8±2,3 пг/мл, у групі зіставлення – 57,0±2,3 пг/мл, що було вище показників референтної норми в середньому в 1,18 та 1,21 рази відповідно (p<0,05). При обчисленні індексу, який відображає співвідношення прозапального (IL-1β) та протизапального (IL-4) ЦК, було встановлено його суттєве підвищення до 0,9±0,06 (норма 0,49±0,02; p<0,05), тобто в 1,84 рази у хворих на НАСГ у сполученні з ХБ та ожирінням. В основній групі цей індекс дорівнював 0,94±0,04, в групі зіставлення – 0,89±0,03 (p>0,1).

Отже у хворих на НАСГ у сполученні з ХБ та ожирінням як в основній, так і в групі зіставлення, відмічалися однотипні зсуви з боку показників ЦПК, які характеризувалися суттєвим підвищенням вмісту прозапальних ЦК (IL-1β, TNFα) при помірному зростанні концентрації протизапального (IL-4) ЦК, у зв'язку з чим індекс IL-1β/IL-4 суттєво підвищувався. Отримані дані свідчать про підвищення прозапальної активності крові у хворих з поєднаною патологією.

Висновки

1. При загостренні НАСГ у хворих з поєднаною патологією спостерігалось Т-лімфопенія, зменшення кількості Т-хелперів/індукторів (CD4+-клітин) та імунорегуляторного індексу CD4/CD8 (Th/Ts), пригнічення функціональної активності Т-клітин за даними РБТЛ з ФГА, підвищення вмісту найбільш токсигенних середньо- та дрібномолекулярних фракцій ЦК.

2. У хворих з поєднаною патологією визначалось підвищення рівня прозапальних (IL-1β, TNF-α) та зменшення протизапального ЦК (IL-4), тобто збільшення прозапальної активності, про що свідчило збільшення індексу IL-1β/IL-4.

3. В подальшому ми плануємо вивчити вплив фітопрепаратів на стан імунітету у хворих на НАСГ у сполученні з ХБ та ожирінням.

Література

1. Грузева Т.С. Ожиріння як глобальна проблема громадського здоров'я / Т.С. Грузева, Г.В. Іншакова // *Главный врач*. – 2008. – № 11. – С. 34-36.
2. Драпкина О.М. Неалкогольная жировая болезнь печени и метаболический синдром / О.М. Драпкина // *Справочник поликлинического врача*. 2008. – № 3. – С. 71-74.
3. Драпкина О.М., Смирин В.И., Ивашкин В.Т. Неалкогольная жировая болезнь печени – современный взгляд на проблему / О.М. Драпкина, В.И. Смирин, В.Т. Ивашкин // *Лечащий врач*. – 2010. – Т. 5, № 5. – С. 57-61.
4. Єлизарова Т.О. Стан клітинної ланки імунітету у хворих на неалкогольний стеатогепатит / Т.О. Єлизарова, Л.В. Кузнецова // *Український медичний альманах*. – 2010. – Т. 13, № 5. – С. 74-76.
5. Звягинцева Т.Д. Современные подходы к лечению неалкогольного стеатогепатита / Т.Д. Звягинцева, А.И. Чернобай // *Сучасна гастроентерологія*. – 2009. – № 3 (47). – С. 35-42.
6. Маев И.В. Состояние органов пищеварения при хроническом бронхите, бронхиальной астме, эмфиземе легких / И.В. Маев, Л.П. Воробьев, Г.А. Бусарова // *Пульмонология*. – 2002. – № 4. – С. 85-92.
7. Маммаев С.Н. Цитокиновая система при неалкогольном стеатогепатите / С.Н. Маммаев, Н.В. Багомедова, П.О. Богомолов // *Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол.* – 2007. – Т. 17, № 4. – С. 30-35.
8. Типовые реакции иммунной системы при различных патологических процессах / А.М. Земсков, М.А. Земсков, В.И. Золотодов [и др.] // *Журн. теоретической и практической медицины*. – 2004. – Т. 2, № 1. – С. 6-12.
9. Філіппов Ю.О. Захворюваність основними хворобами органів травлення в Україні: аналітичний огляд офіційних даних Центру статистики МОЗ України / Ю.О. Філіппов, І.Ю. Скірда, Л.М. Петречук // *Гастроентерологія: міжвід. збірник*. – Дніпропетровськ, 2007. – Вип. 38. – С. 3-15.
10. Фролов В.М. Использование «иммунологического компаса» для диагностики иммунных нарушений / В.М. Фролов, Н.А. Пересадин, С.Е. Казакова // *Клинич. лаборат. диагностика*. – 1994. – № 1. – С. 10-13.
11. Шепеленко А.Ф. Хронический бронхит / А.Ф.Шепеленко // *Трудный пациент*. – 2009. – № 3. – С. 33-38.

12. Bruunsgaard H. Aging and proinflammatory cytokines / H. Bruunsgaard, M. Pedersen // *Curr. Opin. Hematol.* – 2001. – Vol. 8. – P. 131-136.

13. Leite A.B. Risk factors for nonalcoholic steatohepatitis in cryptogenic cirrhosis / A.B. Leite, A.A. Mattos, A.Z. Mattos // *Arq. Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 49 (4). – P. 245-249.

Резюме

Іванова Л.М., Налапко К.К., Сидоренко Ю.В., Холіна О.А., Васильєва В.Л.
Стан клітинної, гуморальної ланок імунітету та цитокинового профілю крові у хворих на неалкогольний стеатогепатит у сполученні з хронічним бронхітом та ожирінням.

При НАСГ у сполученні з ХБ та ожирінням мав місце вторинний імунodefіцит, переважно по відносному Т-супресорному варіанту, який супроводжувався зростанням вмісту ЦИК за рахунок найбільш патогенних фракцій та превалюванням у сироватці крові прозапальних властивостей над протизапальними.

Ключові слова: неалкогольний стеатогепатит, хронічний бронхіт, ожиріння, імунітет, цитокиновий профіль крові.

Резюме

Іванова Л.Н., Налапко К.К., Сидоренко Ю.В., Холина Е.А., Всылєва В.Л.
Состояние клеточного, гуморального звеньев иммунитета и цитокинового профиля крови у больных с неалкогольным стеатогепатитом в сочетании с хроническим бронхитом и ожирением.

При НАСГ в сочетании с ХБ и ожирением имел место вторичный иммунодефицит, преимущественно по относительному Т-супресорному варианту, который сопровождался повышением содержания ЦИК за счет наиболее патогенных фракций и превалированием в сыворотке крови провоспалительных свойств над противовоспалительными.

Ключевые слова: неалкогольный стеатогепатит, хронический бронхит, ожирение, иммунитет, цитокиновый профиль крови.

Summary

Ivanova L.M., Nalapko K.K., Sidorenko Yu.V., Cholina O.A., Vasilieva V.L.
State of cellular, humoral immunity and blood cytokine profile in patients with nonalcoholic steatohepatitis in combination with chronic bronchitis and obesity.

In patients with nonalcoholic steatohepatitis in combination with chronic bronchitis and obesity secondary immunodeficiency occurred, mainly by the relative T-suppressor way, which was associated with increased circulated immune complexes by most pathogenic fractions and the prevalence in serum pro-inflammatory properties.

Key words: nonalcoholic steatohepatitis, chronic bronchitis, obesity, immunity, cytokine profile of blood.

Рецензент: д.мед.н., проф. І.В. Лоскутова

УДК 616.895.4-092.612.017.018.2

АКТИВНІСТЬ ІМУНОКОМПЛЕКСНИХ РЕАКЦІЙ У ХВОРИХ НА РЕКУРЕНТНИЙ ДЕПРЕСИВНИЙ РОЗЛАД ЛЕГКОГО СТУПЕНЮ ТЯЖКОСТІ

І.Ф. Тєрьошина

ДЗ «Луганський державний медичний університет»

Вступ

Депресивні розлади в даний час є однією з провідних медико-соціальних проблем [8, 9]. Їх поширеність в популяції надзвичайно висока - 10-20% всього населення в розвинених країнах, причому середній щорічний показник приросту в світі перевищує 10% [12]. Відповідно, істотно зростає і соціально-економічне значення депресій (витрати на лікування, оплата непрацездатності, зниження ефективності праці тощо), а також їх психологічна роль (вплив на соціальні та особистісні контакти, десоціалізацію і т. д.) [1, 2, 9]. При збереженні існуючих тенденцій до 2020-го року депресивні розлади займуть друге місце (після ішемічної хвороби серця) серед усіх захворювань за кількістю років, втрачених у зв'язку з інвалідністю [12]. Актуальність проблеми обумовлена також високою суїцидальною небезпекою [2, 3, 9]. Тому вивчення патогенезу депресивних розладів та розробка раціональних підходів до лікування даної патології має велике практичне значення.

Сучасні наукові дослідження показали, що в патогенезі рекурентних депресивних розладів (РДР) роль відіграють порушення імунітету і зміни з боку обмінно-метаболических процесів [4, 5, 13, 14]. Однак при цьому роль такої важливої ланки імунної відповіді як активність імунокомплексних реакцій залишається досить не вивченою.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана робота виконувалась відповідно з основним планом науково-дослідницької роботи (НДР) ДЗ «Луганський державний медичний університет» і являє собою фрагменти теми НДР «Імунні та метаболічні порушення в патогенезі шизофренії і депресивних розладів різного генезу та їх корекція» (№ держреєстрації 0108U009465).

Метою роботи було вивчення активності імунокомплексних реакцій у хворих на РДР легкого ступеню тяжкості.