

# РОЛЬ СИСТЕМЫ ЦИТОКИНОВ В ГЕПАТОЦЕЛЛЮЛЯРНОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ С

Скляр Л.Ф.

ГОУ ВПО ВГМУ Росздрава, Владивосток, Россия

**Резюме.** Вирус гепатита С является ведущей причиной хронического гепатита, цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы. Повреждение печени при хроническом вирусном гепатите С (ХВГС) обусловлено как прямыми цитопатическими эффектами вируса, так и иммуноопосредованными механизмами. Цитокины, как продуцируемые локально в печени, так и циркулирующие в системном кровотоке, играют важную роль в контроле вирусной репликации и вносят существенный вклад в гепатоцеллюлярное повреждение. Целью данного исследования являлось изучение показателей содержания некоторых цитокинов в сыворотке крови и их локального уровня во взаимосвязи с показателями некровоспалительных изменений в ткани печени. Установленные связи между содержанием исследуемых цитокинов на системном и локальном уровне с морфологическими показателями свидетельствуют о том, что из всех изученных в работе иммунологических тестов наибольшей значимостью для определения стадии фиброза являлись показатели содержания как в сыворотке так и в супернатантах биоптатов печени IL-4, IL-10, IL-12p70 и TNF $\alpha$ . Следовательно, использование определения концентраций указанных цитокинов в сыворотке крови является альтернативным методом неинвазивного скрининга фиброза печени.

*Ключевые слова:* хронический вирусный гепатит С, цитокины, фиброз.

*Sklyar L.Ph.*

## THE ROLE OF CYTOKINE NETWORK IN HEPATOCELLULAR DAMAGE CAUSED BY CHRONIC HEPATITIS C

**Abstract.** Hepatitis C virus (HCV) is the leading cause of chronic hepatitis, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Liver damage in chronic viral hepatitis C is caused by both direct cytopathic viral effects, and indirect immune-mediated mechanisms. The cytokines locally produced in the liver, as well as those circulating in the blood circulation, play an important role in the control of viral replication and sufficiently contribute to hepatocellular damage. The goal of present study was to investigate the contents of some cytokines in blood serum and their local levels, being in interrelation with indices of necrotic inflammatory changes in the liver tissue. Correlations established between systemic and local contents of studied cytokines, and morphological indices indicate that, among immunological tests checked, the contents of IL-4, IL-10, IL-12p70, and TNF $\alpha$  in blood serum and supernatants of liver biopsies were of the greatest significance for determining the stage of fibrosis. Quantitative assays of abovementioned cytokines in blood serum represent, therefore, an alternative approach in order to perform non-invasive screening of liver fibrosis. (*Med. Immunol.*, 2006, vol.8, № 1, pp 81-86)

## Введение

Вирус гепатита С (HCV) является ведущей причиной хронического гепатита, цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы, а также наиболее частым показанием к проведению трансплантации печени [3]. Это связано с тем, что прогрессия забо-

левания от стадии активного хронического гепатита к циррозу печени протекает бессимптомно и пациент обращается к врачу уже на конечной стадии патологического процесса. Поэтому при обследовании больного с верифицированной HCV-инфекцией первым и необходимым шагом является определение активности и оценка стадии некрозовоспалительных процессов в печени на основании выраженности фиброза. На современном этапе пункционная биопсия печени (ПБП) считается «золотым стандартом» для диагностики фиброза печени у больного ХГС. Гистологическое исследование печени

---

### Адрес для переписки:

Скляр Л.Ф., 690105, г.Владивосток, ул.Русская,  
д.74-Б, кв.18. д.т. (4232) 256-444.  
E-mail: l\_f\_sklyar@bk.ru

служит единственной возможностью точного подтверждения уже сформировавшегося, хотя и компенсированного, цирроза печени, позволяет определить исходное состояние печени до лечения и прогноз ХГС и ответ на противовирусную терапию [2, 6]. К сожалению, ПБП, оставаясь «золотым стандартом» определения стадии фиброза, все-таки является инвазивной методикой с определенным процентом осложнений вплоть до летальных (по данным ряда исследований количество летальных случаев варьирует от 0 до 3,3 на 1000) [5] и, по мнению некоторых авторов, обладает сомнительной информативностью для установления показаний к противовирусной терапии [9]. По их мнению, ценность биопсии ограничивается вариабельностью получаемого образца ткани печени, так как, несмотря на то, что гепатит – диффузное заболевание печени, доля фиброзной ткани в исследуемом образце может не соответствовать доли фиброзной ткани в печени в целом. Кроме этого, ПБП имеет ряд абсолютных и относительных противопоказаний. Необходимо отметить, что нередко для оценки прогноза заболевания и эффективности лечения существует необходимость повторных биопсий в течение жизни одного больного [1]. За последние 10 лет опубликовано значительное число работ, в которых приводятся данные о достижениях в изучении механизмов формирования фиброза и диагностической значимости сывороточных маркеров фиброза [1, 8, 9]. В основу диагностических тестов для определения степени выраженности фиброза включены методы выявления молекулярных соединений, участвующих в патофизиологии процесса образования внеклеточного матрикса или являющихся активаторами фиброгенеза [5, 9]. Данные литературы позволяют сделать заключение о том, что большинство исследователей считают серологические маркеры фиброза полезным методом мониторинга фиброза печени, методом, с помощью которого можно разграничивать стадии фиброза в печени и оценивать эффект противовирусной терапии. Однако ряд исследователей не подтверждает эти заключения [7, 10]. В настоящее время признано, что иммунологические механизмы являются ведущими в формировании хронического гепатита. В связи с этим внимание исследователей все чаще обращается на иммунную систему – важнейшее звено как защиты, так и повреждения печени. Предполагается, что повреждение печени при ХВГ обусловлено как прямыми цитопатическими эффектами вируса, так и иммуноопосредованными механизмами с возможным преобладанием тех или других на различных этапах заболевания. В процессе иммунного воспаления ведущая роль отводится провоспалительным цитокинам – продуктам активированных клеток системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ). Хорошо известно, что на региональном уровне развитие фиброзно-

цирротических изменений в печени тесно связано с мононуклеарной инфильтрацией. В стадии прогрессирующих воспалительных инфильтратов в печени активность коллагеназы в печеночной ткани резко возрастает, а в периоде малообратимого фиброза – стойко снижается. При ХГС это связывают с депрессией клеток Купфера – основных «поставщиков» коллагеназы в печени или с торможением поступления и фиксирования макрофагов в воспалительных инфильтратах. Число функционально активных макрофагов в септах по мере стабилизации процесса фиброза ткани печени неуклонно снижается, а в стадии стойких малообратимых фиброзных преобразований становится минимальным. В стадии хронического воспаления провоспалительные цитокины стимулируют пролиферацию фибробластов и синтез коллагена как непосредственно, так и через индукцию каскада других цитокинов: тромбоцитарного фактора роста фибробластов (PDGF), универсального трансформирующего ростового фактора (TGF $\beta$ ), фактора роста фибробластов (FGF), которые в совокупности усиливают процессы неангиогенеза. При длительной и не контролируемой активации макрофагов в органном очаге хронического иммунного воспаления сочетанный эффект перечисленных медленно действующих цитокинов и ростовых факторов приводит к замещению функционально полноценных тканей фиброзной тканью. Выступая в качестве первой линии защиты организма от вирусного патогена, мононуклеарные фагоциты сами становятся мишенями атаки вируса, что приводит к нарушению их функций. Следовательно, возбудитель фактически может ускользать от эффекторных механизмов иммунитета, сохраняя вирулентность, что объясняет прогрессирующее хроническое поражение клеток печеночной паренхимы с исходом либо в цирроз, либо в рак печени. Таким образом, цитокины, как продуцируемые локально в печени, так и циркулирующие в системном кровотоке, играют важную роль в контроле вирусной репликации и вносят существенный вклад в гепатоцеллюлярное повреждение.

Целью данного исследования являлось изучение содержания некоторых цитокинов в сыворотке крови и их локального уровня во взаимосвязи с показателями некровоспалительных изменений в ткани печени.

## Материалы и методы

Объектом исследования были 40 пациентов с ХГС в возрасте от 18 до 44 лет (в среднем  $29,3 \pm 1,5$  года; 84% мужчин), никогда ранее не получавших лечения противовирусными препаратами. Диагностика ХГС складывалась из данных анамнеза, физического обследования, определения уровня трансаминаз, маркеров вирусной инфекции

(а/тВГС-сум., а/тВГС-IgG, а/тВГС-IgM, а/тВГС-Ns(3-5)), вирусии по данным полимеразной цепной реакции (ПЦР) с генотипированием. Анализировали содержание 8 цитокинов – IL-1 $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$  в сыворотке крови и супернатанте биоптата печени пациентов ХГС и здоровых доноров (15 человек). Для этого периферическую кровь (5 мл) забирали шприцем из локтевой вены, центрифугировали при 3000 об/мин на холоде в течение 10 мин. Сыворотку разливали по 0,5 мл в эпиндорфы, замораживали и хранили до использования при -76°C. Всем пациентам выполнялась чрезкожная пункционная биопсия печени иглой Менгини с получением столбика биоптата не менее 20 мм, от которого 2-3 мм субстрата гомогенизировали с добавлением физиологического раствора (5 мл), ресуспендировали и центрифугировали при 5000 об./мин на холоде в течение 10 мин. Полученный супернатант распределяли по 0,5 мл в эпиндорфы, замораживали и хранили до использования при -76°C. Применяли метод твердофазного ИФА с использованием диагностических наборов (R&D Diagnostics Inc., USA) с чувствительностью 1 пг/мл. Расчеты количества цитокинов проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы и выражали в пг/мл. В качестве контроля при исследовании уровней ци-

токинов в гомогенатах печеночных биоптатов использовали образцы печеночной ткани 5 доноров, не имеющих хронических заболеваний и маркеров инфицирования вирусами парентеральных гепатитов. Учитывая небольшие пределы разбросов показателей, мы сочли возможным ограничиться этим количеством исследований. Необходимо принять во внимание также сложность и специфику забора материала.

Оценку результатов проводили с использованием статистических приемов для малых выборок.

Для морфологического исследования биоптаты обрабатывали по общепринятым методикам и заключали в парафин. В гистологических срезах, окрашенных гематоксилином и эозином и по Ван-Гизону, определяли активность некровоспалительных изменений на основе полуколичественной оценки по Knodell R.G. с соавторами (1981) в модификации Серова В.В. (1996) и индекс фиброза по Desmet V.J. с соавторами (1994) по алгоритму METAVIR [4, 5].

Для оценки информативности системного и локального статуса цитокинов провели корреляционный анализ взаимосвязей между морфологическими характеристиками ХГС и их концентрацией в сыворотке крови и супернатантах биоптатов печени.

Табл. 1. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ (ПГ/МЛ) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ХГС С РАЗЛИЧНОЙ СТАДИЕЙ ФИБРОЗА

Группы обследованных	IL-1 $\alpha$	IL-2	IL-4	IL-10	IL-12p40	IL-12p70	TNF $\alpha$	IFN $\gamma$
F0 (n=12)	1,2 $\pm$ 0,2 <sup>*</sup> P <sub>2</sub> >0,05 P <sub>3</sub> <0,05 P <sub>4</sub> <0,001	0,17 $\pm$ 0,09 P <sub>2</sub> >0,05 P <sub>3</sub> >0,05 P <sub>4</sub> >0,05	4,5 $\pm$ 1,0 P <sub>2</sub> <0,05 P <sub>3</sub> <0,01 P <sub>4</sub> <0,01	28,5 $\pm$ 7,8 <sup>*</sup> P <sub>2</sub> >0,05 P <sub>3</sub> <0,01 P <sub>4</sub> <0,01	69,5 $\pm$ 11,2 P <sub>2</sub> >0,05 P <sub>3</sub> <0,01 P <sub>4</sub> <0,001	85,8 $\pm$ 11,1 <sup>*</sup> P <sub>2</sub> <0,05 P <sub>3</sub> <0,01 P <sub>4</sub> <0,01	9,1 $\pm$ 2,5 <sup>*</sup> P <sub>2</sub> >0,05 P <sub>3</sub> <0,01 P <sub>4</sub> <0,01	10,0 $\pm$ 4,8 P <sub>2</sub> >0,05 P <sub>3</sub> >0,01 P <sub>4</sub> <0,01
F1 (n=13)	1,5 $\pm$ 0,4 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>3</sub> <0,01 P <sub>4</sub> <0,01	0,15 $\pm$ 0,05 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>3</sub> >0,01 P <sub>4</sub> <0,05	11,5 $\pm$ 2,1 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>3</sub> <0,05 P <sub>4</sub> <0,01	34,4 $\pm$ 8,1 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>3</sub> <0,05 P <sub>4</sub> <0,01	100,8 $\pm$ 17,0 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>3</sub> <0,01 P <sub>4</sub> <0,01	62,5 $\pm$ 9,4 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>3</sub> <0,01 P <sub>4</sub> <0,01	13 $\pm$ 1,8 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>3</sub> <0,01 P <sub>4</sub> <0,01	8,1 $\pm$ 2,5 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> >0,05 P <sub>3</sub> >0,01 P <sub>4</sub> <0,01
F2 (n=8)	5,0 $\pm$ 0,9 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,01 P <sub>4</sub> <0,05	0,16 $\pm$ 0,03 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> >0,01 P <sub>2</sub> >0,01 P <sub>4</sub> <0,05	17,0 $\pm$ 1,1 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,05 P <sub>4</sub> <0,05	70,1 $\pm$ 15,1 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,05 P <sub>4</sub> <0,05	180 $\pm$ 30,5 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,01 P <sub>4</sub> >0,05	30,5 $\pm$ 2,3 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,01 P <sub>4</sub> <0,05	20 $\pm$ 1,9 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,01 P <sub>4</sub> <0,01	5,4 $\pm$ 1,8 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> >0,01 P <sub>2</sub> >0,01 P <sub>4</sub> <0,01
F3 (n=7)	7,7 $\pm$ 1,3 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,01 P <sub>3</sub> <0,05	0,1 $\pm$ 0,02 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> <0,05 P <sub>3</sub> <0,01	20,1 $\pm$ 1,2 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,01 P <sub>3</sub> <0,05	107,5 $\pm$ 10,9 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,01 P <sub>3</sub> <0,01	250 $\pm$ 70,0 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,01 P <sub>3</sub> >0,05	10,9 $\pm$ 1,2 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,01 P <sub>3</sub> <0,05	28,5 $\pm$ 3,5 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,01 P <sub>3</sub> <0,01	1,2 $\pm$ 0,4 <sup>*</sup> P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,01 P <sub>3</sub> <0,01
Контроль (n=5)	0,53 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,03	3,2 $\pm$ 1,2	13,9 $\pm$ 0,7	54,8 $\pm$ 3,7	6,3 $\pm$ 1,2	4,3 $\pm$ 1,2	14,3 $\pm$ 1,7

Достоверность различий изучаемого показателя по сравнению с:

\* – контрольной группой (P<0,05); P<sub>1</sub> – группой с F0; P<sub>2</sub> – группой с F1; P<sub>3</sub> – группой с F2; P<sub>4</sub> – группой с F3.

Статистическая обработка полученных материалов произведена на ПЭВМ Pentium-100 с применением прикладных программ BIOSTAT. С целью определения достоверности различий использован t-критерий Стьюдента для факторов, имеющих нормальное распределение. Корреляционный анализ проводили с использованием непараметрической корреляции Спирмена.

## Результаты и обсуждение

При изучении содержания цитокинов в сыворотке крови при ХГС наблюдалось достоверное увеличение концентраций цитокинов Th2-типа (IL-4, IL-10) и провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-12p40, IL-12p70 на фоне достоверного снижения уровней Th1 цитокинов (IL-2 и IFN $\gamma$ ). При этом имеется статистически значимое отличие уровней цитокинов в группах пациентов с разными стадиями фиброза (табл.1). Из таблицы видно, что концентрация провоспалительных цитокинов (IL-1 $\alpha$ , TNF $\alpha$ ) в сыворотке крови более чем в 2,5 раза превышает их уровни у здоровых людей. При этом, содержание IL-1 $\alpha$  и TNF $\alpha$  у больных с F2 и F3 достоверно выше их уровня в группе больных без признаков фиброза (F0). Не определено достоверных различий между концентрацией исследуемых цито-

кинов в группах с F0 и начальными его проявлениями (F1) ( $p>0,05$ ). Уровни сывороточных цитокинов IL-2 и IFN $\gamma$ , продуцируемые Т-клетками 1 типа значительно снижены, в особенности IFN $\gamma$ . При сравнении содержания исследуемых цитокинов у больных с разными стадиями фиброза отмечено, что статистически значимые различия определялись в группе больных с F3 ( $p<0,01$ ). В то время как в группе с F0 показания уровней сывороточных IL-2 и IFN $\gamma$  по сравнению со здоровыми не отличались ( $0,17\pm 0,09$  пг/мл и  $10,0\pm 4,8$  пг/мл против  $0,2\pm 0,03$  пг/мл  $14,3\pm 1,7$  пг/мл соответственно,  $p<0,05$ ). Что касается сывороточного содержания цитокинов Т-клеток 2 типа, то для IL-4 и IL-10 обнаружены значительные повышения их уровней по мере прогрессирования фиброза. Концентрация IL-4 в группе без фиброза статистически значимо не отличалась от показателя уровня исследуемого цитокина в сыворотке крови у здоровых ( $4,5\pm 1,0$  пг/мл против  $3,2\pm 1,2$  пг/мл,  $p>0,05$ ). Содержание сывороточного IL-10 в группах больных с F0 и F1 также достоверно не изменялось ( $28,5\pm 7,8$  пг/мл и  $34,4\pm 8,1$  пг/мл, соответственно,  $p>0,05$ ). Исследование локального содержания IL-1 $\alpha$ , IL-4, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, TNF $\alpha$  свидетельствует о достоверном увеличении их уровней, а также о снижении концентраций IL-2, IFN $\gamma$  по сравнению с группой контроля (табл.2).

Табл.2. СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ (ПГ/МЛ) В СУПЕРНАТАНТЕ ПЕЧЕНИ У БОЛЬНЫХ ХГС С РАЗЛИЧНОЙ СТАДИЕЙ ФИБРОЗА

Группы обследованных	IL-1 $\alpha$	IL-2	IL-4	IL-10	IL-12p40	IL-12p70	TNF $\alpha$	IFN $\gamma$
F0 (n=12)	$20,0\pm 3,5$ $P_2<0,01$ $P_3<0,01$ $P_4<0,01$	$30,1\pm 3,1$ $P_2>0,01$ $P_3<0,01$ $P_4<0,01$	$75,1\pm 20,0$ $P_2<0,001$ $P_3<0,001$ $P_4<0,001$	$150,1\pm 30,1$ $P_2>0,05$ $P_3<0,01$ $P_4<0,01$	$20,5\pm 3,5$ $P_2<0,01$ $P_3<0,01$ $P_4<0,001$	$30,3\pm 5,1$ $P_2<0,01$ $P_3<0,01$ $P_4<0,01$	$10,1\pm 1,5$ $P_2<0,01$ $P_3<0,01$ $P_4<0,001$	$70,5\pm 12,5$ $P_2<0,05$ $P_3<0,05$ $P_4<0,01$
F1 (n=13)	$70,0\pm 11,2$ $P_1<0,01$ $P_3>0,05$ $P_4<0,01$	$20,5\pm 5,1$ $P_1<0,001$ $P_3<0,001$ $P_4<0,001$	$200\pm 95,1$ $P_1<0,01$ $P_3<0,05$ $P_4<0,01$	$170\pm 18,5$ $P_1>0,05$ $P_3<0,05$ $P_4<0,01$	$50,1\pm 7,8$ $P_1<0,01$ $P_3<0,01$ $P_4<0,001$	$20,5\pm 1,2$ $P_1<0,01$ $P_3<0,05$ $P_4<0,01$	$59\pm 2,8$ $P_1<0,01$ $P_3<0,01$ $P_4<0,001$	$30,1\pm 9,5$ $P_1<0,05$ $P_3>0,05$ $P_4>0,05$
F2 (n=8)	$75\pm 10,8$ $P_1<0,01$ $P_2>0,05$ $P_4<0,05$	$10,5\pm 1,5$ $P_1<0,01$ $P_2<0,01$ $P_4>0,05$	$400\pm 90,3$ $P_1<0,01$ $P_2<0,05$ $P_4<0,01$	$240\pm 70,8$ $P_1<0,01$ $P_2<0,05$ $P_4<0,01$	$200,1\pm 90,1$ $P_1<0,01$ $P_2<0,01$ $P_4<0,001$	$10,2\pm 2,4$ $P_1<0,01$ $P_2<0,01$ $P_4<0,01$	$100\pm 15,9$ $P_1<0,01$ $P_2<0,01$ $P_4<0,01$	$30,8\pm 8,1$ $P_1<0,05$ $P_2>0,05$ $P_4>0,05$
F3 (n=7)	$100\pm 21,5$ $P_1<0,01$ $P_2<0,01$ $P_3>0,05$	$8,3\pm 1,1$ $P_1<0,001$ $P_2<0,01$ $P_3>0,05$	$800\pm 100,0$ $P_1<0,001$ $P_2<0,01$ $P_3<0,001$	$450,5\pm 80,0$ $P_1<0,01$ $P_2<0,01$ $P_3<0,01$	$2000\pm 180$ $P_1<0,001$ $P_2<0,001$ $P_3<0,001$	$2,1\pm 0,9$ $P_1<0,01$ $P_2<0,01$ $P_3<0,01$	$200\pm 20,8$ $P_1<0,001$ $P_2<0,001$ $P_3<0,01$	$25,3\pm 7,5$ $P_1<0,01$ $P_2>0,05$ $P_3>0,05$
Контроль (n=5)	$16,4\pm 2,9$	$29,0\pm 2,8$	$55,0\pm 9,4$	$139,4\pm 13,2$	$6,8\pm 0,9$	$3,3\pm 0,7$	$4,9\pm 1,4$	$64,4\pm 2,9$

Достоверность различий изучаемого показателя по сравнению с:

\* – контрольной группой ( $P<0,05$ );  $P_1$  – группой с F0;  $P_2$  – группой с F1;  $P_3$  – группой с F2;  $P_4$  – группой с F3.

Табл.3. КОЭФФИЦИЕНТЫ КОРРЕЛЯЦИИ (R) И УРОВНИ ИХ ЗНАЧИМОСТИ (P) МЕЖДУ ВЫРАЖЕННОСТЬЮ ФИБРОЗА (F) И ПОКАЗАТЕЛЯМИ СОДЕРЖАНИЯ СЫВОРОТОЧНЫХ И ЛОКАЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ ХГС

Цитокины	Сыворотка						Супернатант печени					
	F1(1-4) (n = 15)		F2(5-8) (n = 10)		F3(9-12) (n = 5)		F1(1-4) (n = 15)		F2(5-8) (n = 10)		F3(9-12) (n = 5)	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
IL-1 $\alpha$	0,1	0,8	0,09	0,7	0,65	0,01	0,14	0,7	0,33	0,2	0,68	0,001
IL-2	0,26	0,4	0,33	0,2	0,49	0,1	0,28	0,4	0,22	0,4	<b>0,95</b>	<b>0,001</b>
IL-4	<b>0,97</b>	<b>0,001</b>	<b>0,87</b>	<b>0,001</b>	<b>0,98</b>	<b>0,001</b>	<b>0,95</b>	<b>0,01</b>	<b>0,89</b>	<b>0,001</b>	<b>0,97</b>	<b>0,001</b>
IL-10	<b>0,96</b>	<b>0,001</b>	<b>0,93</b>	<b>0,001</b>	<b>0,94</b>	<b>0,001</b>	<b>0,91</b>	<b>0,01</b>	<b>0,92</b>	<b>0,001</b>	<b>0,94</b>	<b>0,01</b>
IL-12p40	0,1	0,8	<b>0,99</b>	<b>0,001</b>	<b>0,97</b>	<b>0,001</b>	0,18	0,6	0,9	0,7	<b>0,93</b>	<b>0,001</b>
IL-12p70	<b>0,94</b>	<b>0,01</b>	<b>0,93</b>	<b>0,001</b>	<b>0,98</b>	<b>0,001</b>	<b>0,94</b>	<b>0,01</b>	<b>0,99</b>	<b>0,01</b>	<b>0,98</b>	<b>0,001</b>
TNF $\alpha$	<b>0,87</b>	<b>0,001</b>	<b>0,9</b>	<b>0,001</b>	<b>0,98</b>	<b>0,01</b>	<b>0,93</b>	<b>0,01</b>	<b>0,9</b>	<b>0,01</b>	<b>0,98</b>	<b>0,001</b>
IFN $\gamma$	0,76	0,001	0,67	0,01	0,48	0,1	0,17	0,6	0,3	0,2	<b>0,96</b>	<b>0,001</b>

Выделенные цифры означают максимальную степень R и p между изучаемыми показателями

Самый низкий локальный уровень провоспалительных и Th1-продуцируемых цитокинов наблюдался при F1 для IFN $\gamma$  ( $p < 0,01$ ) и при F2 для IL-2 ( $p < 0,05$ ). Содержание IL-1 $\alpha$  в супернатанте печени достоверно не отличалось между показателями в группах с F2 и F3 ( $75,0 \pm 10,8$  пг/мл и  $100,0 \pm 21,5$  пг/мл, соответственно,  $p > 0,05$ ). Локальный уровень TNF $\alpha$  в исследуемых группах имел достоверную тенденцию к увеличению его концентрации при прогрессировании фиброза и в отличие от сывороточного уровня был достоверно отличен в группах с F0 и F1 ( $10,1 \pm 1,5$  пг/мл и  $59,0 \pm 2,8$  пг/мл, соответственно,  $p < 0,01$ ). Содержание цитокинов профиля Th 2 типа на местном уровне характеризовалось статистически значимым увеличением концентрации IL-4 и IL-10 в исследуемых группах. В отличие от сывороточных значений этих цитокинов наблюдалось значительное их увеличение (на местном уровне) по сравнению с группой здоровых более, чем в 20 раз в группе с F3 (для IL-4,  $p < 0,001$ ). Содержание IL-12p40 на системном уровне в исследуемых группах достоверно отличалось от группы здоровых ( $p < 0,05$ ), однако в группах с разной стадией фиброза статистическая значимость различий была неравномерной. В отличие от этого на местном уровне четко определялась статистическая значимость различий в содержании исследуемого цитокина в группах с разными стадиями фиброза ( $p < 0,001$ ). При этом в группе с высокой стадией фиброза (F3) концентрация локального IL-12p40 превосходила нормальные значения в 300 раз, что отличалось от сывороточного показателя (в 5 раз). Таким образом, несмотря на определенные различия, изменение баланса цитокинов Th1 и Th2 на локальном и системном уровнях носит однонаправленный характер. При изучении корреляционных взаимосвязей между исследуемыми цитокинами в различных биологических субстратах (сыворотке крови и супернатантах печени) и выраженностью фиброза печени в баллах выявлена высокая степень корреляции между параметрами IL-4, IL-10, IL-12p70 и TNF $\alpha$ , что дает возможность использования их в качестве достоверных маркеров выраженности фиброза печени

(табл.3). Наиболее значимым для оценки выраженности фиброза явилось повышение уровней сывороточных IL-4 ( $> 5,6$  пг/мл), IL-10 ( $> 35$  пг/мл), TNF $\alpha$  ( $> 14$  пг/мл) и IL-12p70 ( $> 8,5$  пг/мл). Следовательно, определенные интервалы параметров иммунитета могут служить критериями неблагоприятного течения болезни. Согласно литературным данным, высокий уровень TNF $\alpha$  связывают с индукцией апоптоза гепатоцитов и макрофагов, что стимулирует экспрессию интегрина Mac-1, который в свою очередь манифестирует переход воспалительного процесса в цирроз и ограничивает выработку цитокинов Th1-типа [5]. Именно этим можно объяснить высокую степень корреляционных связей между концентрацией TNF $\alpha$ , продуцируемого, преимущественно, клетками СММ, и IL-4, IL-10 – продуцируемых Th 2 типа, на системном и локальном уровнях и выраженностью фиброза, что возможно ведет к избыточной активации гуморальной составляющей иммунной системы с иммунопатологическими последствиями. Преобладание увеличения концентрации локальных цитокинов может быть связано и с нарушением их инактивации поврежденной печенью. К противовоспалительным механизмам относится локальное и системное действие IL-10, направленное на ингибирование продукции TNF $\alpha$  и регуляцию синтеза IL-12. Однако при дисбалансе провоспалительных и противовоспалительных цитокинов иммунологические механизмы приобретают патологический характер, что имеет место при ХГС.

Таким образом, установленные связи между содержанием исследуемых цитокинов на системном и локальном уровне с морфологическими показателями свидетельствуют о том, что из всех изученных в работе иммунологических тестов наибольшей значимостью для определения стадии фиброза являлись показатели содержания как в сыворотке, так и в супернатантах биоптатов печени IL-4, IL-10, IL-12p70 и TNF $\alpha$ . Следовательно, определение концентраций указанных цитокинов в сыворотке крови является альтернативным методом неинвазивного скрининга фиброза печени.

## Список литературы

1. Жданов К.В., Лобзин Ю.В., Гусев Д.А., Чирский В.С. Значение морфологических исследований в диагностике и лечении парентеральных вирусных гепатитов // Вирусные гепатиты (достижения и перспективы): Информ. бюл. – 2003. - № 2(17). – С. 11-6.
2. Майер К.П. Гепатит и последствия гепатита. Практическое руководство. - М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. – 432с.
3. Никитин И.Г., Строжаков Г.И., Федоров И.Г. Хронический гепатит С у пациентов, перенесших трансплантацию печени: механизмы прогрессирования и подходы к лечению // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2003. - № 4. – С. 4-10.
4. Bedossa P., Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. The METAVIR Cooperative Study Group // Hepatology. – 1996. – Vol. 24. – №2. - P. 769-773.
5. Brunt E.M. Grading and staging the histopathological lesions of chronic hepatitis C: the Knodell Histology Activity index and beyond // J. Hepatol. – 2000. – N. 31. – P. 241-246.
6. Foster G., Goldin R., Main J. The management of chronic hepatitis C: clinical audit of a biopsy based management algorithm // Br. Med. J. – 1997. – Vol.315. – P. 453-458.
7. Freeman A. J., Marinos G., French R. A., Lloyd A. R. Immunopathogenesis of hepatitis C virus infection // Immunol. Cell Biol. 2001, Vol.79. – P. 515-36.
8. Grant A., Neuberger J. Guidelines on the use liver biopsy in clinical practice // Gut. – 1999. - Vol. 45(4). – P. 1-11.
9. Marcellin P., Asselah N., Boyer N. Fibrosis and disease progression in hepatitis C // Hepatology. – 2002. – Suppl 1 (36). – P. 47-56.
10. Wedemeyer H., Cornberg, Manns M. P. Immunopathogenesis and therapy of hepatitis C. In: Liver Immunology, ed Gershwin M. - 2003. – Ch. 16. – P. 223-248.

*поступила в редакцию 10.06.2005*

*отправлена на доработку 10.09.2005*

*принята к печати 28.09.2005*