

ДИНАМИКА ЦИТОКИНОВ И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ У ПАЦИЕНТОВ С ЦИРРОЗАМИ ПЕЧЕНИ

Б.Б. Фишман, М.А. Тонеева, В.Е. Куликов, В.А. Корнилова, Э.Р. Антонова

Новгородский государственный университет им. Ярослава Мудрого, Великий Новгород, Россия

Целью исследования было определение сывороточных уровней интерлейкина-2, интерлейкина-6, фактора некроза опухоли альфа с оценкой степени их взаимосвязей у больных циррозами печени классов А, В, С по Chald-Pugh. Уровни цитокинов у 117 больных определялись методом твердофазного иммуноферментного анализа. Выявлено, что на фоне снижения компенсации ЦП отмечается повышение сывороточных уровней ИЛ-2, ИЛ-6 и ФНО- α в пределах референсных значений, за исключением уровня ИЛ-6 при ЦП класса С. У данной категории больных уровень ИЛ-6 превышает референсные значения и находится в пределах от 9,94 до 25,21 пг/мл со средней концентрацией $14,89 \pm 4,96$ пг/мл. Количественные соотношения и степень взаимосвязи между цитокинами определяются компенсацией цирроза. Значимая корреляционная взаимосвязь отмечается между ФНО- α и ИЛ-6 ($r = 0,499$) при ЦП класса А, ФНО- α и ИЛ-2 ($r = 0,421$) при ЦП класса В.

Ключевые слова: интерлейкин-2, интерлейкин-6, фактор некроза опухоли альфа, цирроз печени.

Введение

Изучению цирроза печени и его осложнений посвящено множество клинических и экспериментальных исследований. Достигнуты успехи в изучении этиологических и предрасполагающих к этому заболеванию факторов. Вместе с тем, многие вопросы патогенеза осложнений цирроза печени остаются еще недостаточно изученным, а результаты научных исследований, проводимых в этом направлении, противоречивы. В настоящее время наиболее правомочной теоретической основой, объясняющей этиологию развития осложнений при циррозе печени, считается теория периферической вазодилатации, однако и она не дает ответа на все существующие вопросы по данной проблеме [1, 2]. В настоящее время недостаточно изучены частота возникновения и характер осложнений при циррозе печени на фоне влияния цитокинов на активацию патологического процесса в печени и нарушение портального кровотока [3–6].

Кроме того, существуют данные об активации цитокинового каскада при циррозе печени. Так, гиперпродукция фактора некроза опухоли - альфа и интерлейкина-6 вызывает повреждение печени и коррелирует с тяжестью течения цирроза печени [7, 8]. Учитывая разнородность данных в литературе, касающихся уровня цитокинов в сыворотке крови и их влияния, исследования механизмов патогенеза и осложнений при циррозе печени в этом направлении должны неуклонно продолжаться. В тоже время нет четких

данных о взаимосвязи между функциональными показателями печени и уровнями цитокинемий при циррозах [9, 10].

Материалы и методы исследования

Основные выводы работы основаны на научном материале, полученном при исследовании 117 пациентов циррозами печени (ЦП) вирусной этиологии без сопутствующих основному диагнозу воспалительных процессов органов и систем в стадии обострения, повышения гормонального статуса и артериальной гипертензии 3 степени. У наибольшего количества больных ($n = 54$ (46,1%)) ЦП развивался на фоне HCV-инфекции, при HBV-инфекции – у 41 (35,1%) и микс-инфекции (HCV + HBV) – у 22 (18,8%) пациентов. ЦП развивался преимущественно от 10 и более лет с момента установления диагноза. Наименьший период развития ЦП отмечался у больных смешанной этиологии (HBV + HCV-инфекций), но в то же время статистически не достоверно ($p = 0,079$) в сравнении с больными других этиологией. В среднем ЦП развивался в течение $10,1 \pm 2,8$ лет и имел место во всех возрастных периодах больных. ЦП чаще развивался у мужчин ($n = 91$ (77,8%)), чем у женщин ($n = 26$ (22,2%)) и в более молодом возрасте – у мужчин в возрастном интервале $55,4 \pm 2,9$ лет, у женщин – $62,3 \pm 3,5$ лет. Средний возраст всех больных составил $57,3 \pm 4,6$ лет.

Диагноз заболевания с верификацией результатов диагностики и лечения ставился в полном соответствии с классификацией экспертов ВОЗ (Лос-Анджелес, 1994) и Национальных клини-

ческих рекомендаций Всероссийского научного общества гастроэнтерологов (2011). На основании классификации ЦП по Chald-Pugh (1996) пациенты были разделены на 3 группы: I группу составили больные (n = 38) Chald-Pugh класса А с ФНО-α и ИЛ-2, ИЛ-6; II группу – больные (n = 40) Chald-Pugh класса В с ФНО-α и ИЛ-2, ИЛ-6; в III группу вошли больные (n = 39) Chald-Pugh класса С с ФНО-α и ИЛ-2, ИЛ-6. Контрольную группу составили 30 здоровых добровольцев (доноры крови). Определения уровней интерлейкина-2 (ИЛ-2), интерлейкина-6 (ИЛ-6) и фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α) были основаны на методе твердофазного «сэндвич»-варианте иммуноферментного анализа. Для получения результатов и динамических наблюдений, адекватно отражающих изменение концентраций ИЛ-2, ИЛ-6 и ФНО-α в крови, использовались наборы реагентов одного наименования («Интерлейкин-2 - ифа - бест», «Интерлейкин - 6 - ифа - бест» и «ФНО - альфа - ифа - бест») и одного того же предприятия - изготовителя (Н. Новгород). Концентрации цитокинов измерялись в крови с 9 до 11 часов.

Степень достоверности работы состояла из нескольких этапов. На первом этапе классическим методом, основанным на теории выборки, был проведен расчет объема нужной статисти-

ческой выборки. Полученный статистический материал группировался в вариационные ряды, которые далее анализировались на соответствие распределения с помощью дескриптивной статистики, закона распределения Гаусса–Лапласа. Также использовались непараметрические методы статистики, основанные на конкордации Кендалла и критериев Фридмана. Были использованы средние величины, в сравнительном анализе учитывался показатель $M \pm SD$. На втором этапе обработки полученного статистического материала была проведена группировка данных по вариационным рядам с учетом величины статистической значимости результатов при $p < 0,05$. По величинам интерквартильного размаха оценивалась величина распределения плотности Гаусса. С помощью корреляционно-матричного метода статистики Спирмена осуществлялось определение степени взаимосвязи между отдельными признаками. Непосредственно статистическая обработка осуществлялась при помощи статистической программы Stat Soft Statistica, версия 8.0.

Результаты и их обсуждение

Были изучены параметры уровней ИЛ-2, ИЛ-6 и ФНО-α в крови у больных ЦП классов А, В, С. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Количественные значения цитокинов при циррозах печени классов А, В и С по Chald-Pugh

Цитокины	Статистические показатели						
	M±M	Me	M	SD	m	Размах	Плотность Гаусса
Больные циррозами печени Chald-Pugh класса А (n = 38)							
Косой вертикальный размер правой доли, мм Печень							
ИЛ-2, пг / мл	1,83–2,32	1,94	2,02	0,17	0,15	0,49	0,34
ИЛ-6, пг/мл	5,15–9,32	6,45	6,47	0,91	0,63	4,17	0,97
ФНО-α, пг/ мл	1,23–3,15	2,32	2,47	0,61	0,52	1,92	0,99
Больные циррозами печени Chald-Pugh класса В (n = 40)							
ИЛ-2, пг/мл	1,02–9,35	2,12	3,66	2,99	2,46	8,34	5,52
ИЛ-6, пг/мл	1,11–14,95	8,32	8,97	3,95	3,01	13,85	5,33
ФНО-α, пг/мл	1,78–3,11	2,83	2,62	0,47	1,56	5,37	3,24
Больные циррозами печени Chald-Pugh класса С (n = 39)							
ИЛ-2, пг/мл	1,04–8,39	2,46	3,99	2,41	2,01	7,35	4,27
ИЛ-6, пг/мл	9,94–25,21	13,31	14,89	4,96	4,01	15,24	7,94
ФНО-α, пг/мл	1,74–7,11	3,29	3,96	1,82	0,38	1,33	0,80

Примечание: приведены значения при CI = 0,95(±).

Из данных, представленных в таблице 1, видно, что при ЦП в зависимости от стадии компенсации отмечается общая тенденция к увеличению уровней всех исследуемых в крови цитокинов, но в пределах референсных значений, за исключением ИЛ-6. Так, при ЦП класса А уровни ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α колебались в пределах 1,83–2,32 пг/мл, 5,15–9,32 пг/мл, 1,23–3,15 пг/мл и в среднем составили $2,02 \pm 0,17$ пг/мл, $6,47 \pm 0,91$ пг/мл, $2,47 \pm 0,61$ пг/мл соответственно. При ЦП класса В уровни ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α колебались в пределах 1,02–9,35 пг/мл, 1,11–14,95 пг/мл, 1,78–3,11 пг/мл и в среднем составили $3,66 \pm 2,99$ пг/мл, $8,97 \pm 3,95$ пг/мл, $2,62 \pm 0,47$ пг/мл соответственно. У больных ЦП класса С уровни ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α колебались в пределах 1,04–8,39 пг/мл, 9,94–25,21 пг/мл, 1,74–7,11 пг/мл и в среднем составили $3,99 \pm 2,41$ пг/мл, $14,89 \pm 4,96$ пг/мл, $3,96 \pm 1,82$ пг/мл соответственно. При ЦП класса С пределы колебаний средних значений ИЛ-6 были выше референсных значений доноров и отмечались в пределах $14,89 \pm 4,96$ пг/мл. Также необходимо отметить, что колебания уровней ИЛ-6 при ЦП класса А находились в пределах референсных

значений, класса В – у 42,5% из 40 больных, класса С только у 30,8% из 39 больных. У других больных ЦП классов В и С уровни колебаний ИЛ-6 превышали референсные значения.

У больных ЦП класса А величины интерквартильных размахов уровней ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α составляли 0,49, 4,17, 0,99, медианы – в пределах 1,94, 6,45, 2,83 соответственно. У больных ЦП класса В величины интерквартильных размахов уровней ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α составляли 8,34, 13,85, 5,37, медианы – 2,12, 9,22, 3,29 соответственно. У больных ЦП класса С величины интерквартильных размахов уровней ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- α были 7,35, 15,27, 1,33, медианы – 2,46, 13,31, 2,32 соответственно. У доноров в возрасте от 20 до 60 лет пределы колебаний концентраций для ИЛ-2 составляли от 0,1 до 9,7 пг/мл, ИЛ-6 от 0,2 до 9,8 пг/мл и ФНО- α от 0,1 до 4,7 пг/мл соответственно (у доноров полученные данные уровней статистически не противоречат заводу-изготовителю). По медиане уровень цитокинемии у больных ЦП выше в сравнении с донорами.

Была изучена взаимосвязь между уровнями ИЛ-2, -6, ФНО- α при ЦП классов А, В, С. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты матричного корреляционного анализа взаимосвязи цитокинов при ЦП классов А, В, С

	ИЛ-6 ЦП А	ИЛ6 ЦП В	ИЛ6 ЦП С	ФНО ЦП А	ФНО ЦП В	ФНО ЦП С	ИЛ2 ЦП А	ИЛ2 ЦП В	ИЛ2 ЦП С
ИЛ6 ЦП А		0,006	0,043	-0,499	-0,175	0,080	-0,371	-0,112	-0,070
ИЛ6 ЦП В	0,006		-0,072	-0,140	-0,007	0,206	0,372	-0,060	-0,237
ИЛ6 ЦП С	0,043	-0,072		-0,155	0,166	0,292	0,040	0,234	-0,127
ФНО ЦП А	-0,499	-0,140	-0,155		0,305	0,080	-0,224	-0,098	0,187
ФНО ЦП В	-0,175	-0,007	0,166	0,305		0,012	-0,175	0,421	-0,371
ФНО ЦП С	0,080	0,206	0,292	0,080	0,012		0,109	-0,023	-0,053
ИЛ2 ЦП А	-0,371	0,372	0,040	-0,224	-0,175	0,109		-0,060	-0,091
ИЛ2 ЦП В	-0,112	-0,060	0,234	-0,098	0,421	-0,023	-0,060		-0,316
ИЛ2 ЦП С	-0,070	-0,237	-0,127	0,187	-0,371	-0,053	-0,091	-0,316	

Из данных, представленных в таблице 2, видно, что в результате матричного корреляционного анализа взаимосвязей между цитокинами при циррозах печени классов А, В, С было выявлено, что наиболее значимые корреляционные взаимосвязи наблюдались между фактором некроза опухоли- α и интерлейкином-6 при ЦП класса А ($r = -0,499$), фактором некроза опухоли- α и интерлейкином-2 при ЦП класса В ($r = 0,421$).

Выводы

1. На фоне снижения компенсации цирроза печени отмечается повышение сывороточных уровней ИЛ 2, ИЛ 6 и ФНО α в пределах референсных значений, за исключением уровня ИЛ-6 при циррозе печени класса С. У данной категории больных уровень ИЛ-6 превышает референсные значения и находится в пределах от 9,94 до 25,21 пг/мл со средней концентрацией $14,89 \pm 4,96$ пг/мл.

2. Количественные соотношения и степень взаимосвязи между цитокинами определяются компенсацией цирроза. Значимая корреляционная взаимосвязь отмечается между ФНО- α и ИЛ-6 ($r = 0,499$) при циррозе печени класса А, между ФНО- α и ИЛ-2 ($r = 0,421$) при циррозе печени класса В.

Литература

1. *Ивашкин, В.Т.* Осложнения портальной гипертензии при циррозе печени / В.Т. Ивашкин // Российский физиологический журнал. – 2009. – №10. – С. 74–76.
2. *Iwakiri, Y.* The hyperdynamic circulation of chronic liver diseases: from the patient to the molecule / Y.I. wakiri, R.J. Groszmann //

Hepatology. – 2006. – Vol. 43, Suppl.1. – P. 122–130.

3. *Chen, T.A.* Effect of intravenous albumin on endotoxin removal, cytokines, and nitric oxide production in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis / T.A. Chen, T.Y. Csao, T.A. Chen // Scand. J. Gastroenterol. – 2009. – Vol.44, № 5. – P. 619–625.

4. *Nagano, T.* Cytokine profile in the liver of primary biliary cirrhosis / T. Nagano [et al.] // J. Clin. Immunol. – 1999. – Vol. 19. – P. 422–426.

5. *La Villa, G.* Hemodynamic alterations in liver cirrhosis / G. La Villa, P. Gentilini // Mol. Aspects Med. – 2008. – Vol. 29. – P. 113–119.

6. *Мироджанов, Г.К.* Интерлейкин-6 и оксид азота в патогенезе портальной гипертензии и декомпенсации цирроза печени / Г.К. Мироджанов [и др.] // Клиническая медицина. – 2012. – №1. – 47–53.

7. *Пальцев, М.А.* Патологическая анатомия / М.А. Пальцев, Л.В. Кактурский, О.В. Зайратьянц. – М.: ГЭОТАВР, 2011. – 1206 с.

8. *Шерлок, Ш.М.* Заболевания печени и желчных путей / Ш. Шерлок, Дж. Дули. – М: Медицина, 1999. – 115 с.

9. *Köksal, A.S.* Clinical features, serum interleukin-6, and interferon-gamma levels of 34 Turkish patients with hepatoportal sclerosis / A.S. Köksal, S. Köklü, M. İbic // Dig. Dis. Sci. – 2007. – Vol. – 52, № 12. – P. 3494–3497.

10. *Navasa, M.C.* Tumor necrosis factor and interleukin-6 in spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: relationship with the development of renal impairment and mortality / M. Navasa [et al.] // J. Hepatol. – 1998. – Vol. 27. – P. 1226–1232.

В.Е. Куликов
Тел. 89272708266,
E-mail: kulikov69@bk.ru

Фишман Б.Б., Тонеева М.А., Куликов В.Е., Корнилова В.А., Антонова Э.Р. Динамика цитокинов и их взаимосвязь у пациентов с циррозами печени // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2015. – Том 7, № 1. – С. 110–114.

DYNAMICS OF CYTOKINS AND THEIR INTERRELATION IN LIVER CIRRHOSIS*B.B. Fishman, M.A. Toneeva, V.E. Kulikov, V.A. Kornilova, E.R. Antonova*

Novgorod State University named after Yaroslav the Wise, Velikiy Novgorod, Russia

The research objectives are to determine serum interleukins (IL-2, IL-6) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and evaluate their interrelation in liver cirrhosis (class A, B, C according to Chad-Pugh). 117 patients were examined and their cytokines levels were determined using enzyme-linked immunosorbent assay. Elevation of cytokine levels IL-2, I-6 and TNF- α within reference values was found in liver cirrhosis cases, except for level IL-6 in liver cirrhosis cases of class C. In these cases IL-6 level exceeds reference values and is within the limit of 9,94 - 25,21 pg / ml with average concentration of $14,89 \pm 4,96$ pg / ml. Correlation is found between TNF- α and IL-6 ($r = - 0,499$) in liver cirrhosis of class A and correlation between TNF- α and IL-2 ($r = 0,421$) is found in liver cirrhosis of class B.

Key words: interleukin-2, interleukin-6, tumor necrosis factor alpha, cirrhosis of liver.

Authors

V.E. Kulikov

Tel.: 89272708266

E-mail: kulikov69@bk.ru

Fishman B.B., Toneeva M.A., Kulikov V.E., Kornilova V.A., Antonova E.R. Dynamics of cytokins and their interrelation in liver cirrhosis // Herald of the Northwestern State Medical University named after I.I. Mechnikov. – 2015. – Vol. 7, № 1. – P. 110–114.