

УДК616.36-002.14-02:616-097]-091

Ю.В. Каминский, Л.Ф. Складар, Е.В. Маркелова,
О.Г. Полушин

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТАХ

Владивостокский государственный медицинский
университет

Ключевые слова: хронические вирусные гепатиты,
биопсия, цитокины.

В настоящее время признано, что иммунологические механизмы являются ведущими в формировании хронического гепатита. Предполагается, что повреждение печени при хронических вирусных гепатитах (ХВГ) обусловлено как прямым цитопатическим действием вируса, так и иммуопосредованным цитотоксикозом с возможным преобладанием того или другого механизма на различных этапах заболевания. Противовирусный иммунитет в значительной мере определяется продукцией ряда цитокинов [1, 5]. Гепатоциты, эндотелиальные и купферовские клетки являются триадой, составляющей основу последующих воспалительных реакций. Ключевую роль в распространении паренхиматозного воспаления играют купферовские клетки — основные продуценты цитокинов. Синусоидальные эндотелиальные клетки, перисинусоидальные звездчатые клетки Ито и резидентные киллерные клетки (pit-клетки) расширяют провоспалительное микроокружение. Гепатоциты самостоятельно экспрессируют адгезионные молекулы и выделяют провоспалительные цитокины. Циркулирующие лейкоциты (нейтрофилы, Т-лимфоциты, моноциты) «маргинируют», прилипают к синусоидальному эндотелию и могут проникать в перисинусоидальное пространство. Указанные клетки дополнительно высвобождают провоспалительные цитокины и обладающие повреждающим действием химические радикалы. Мишенью «цитокиновой атаки» служат преимущественно гепатоциты [3]. Дисбаланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в пользу последних может приводить к нарушению лизиса пораженных клеток и элиминации вирусных частиц с развитием хронического воспаления. Этим же можно объяснить редкое возникновение при гепатите С гиперергической реакции иммунной системы с развитием фульминантной формы болезни [4]. Цитокины, продуцируемые Т_H1-лимфоцитами, — у-интерферон, интерлейкин-2а — усиливают клеточный иммунитет, при котором клетки с CD8-рецепторами играют важную роль в борьбе с инфекцией: ингибируют гуморальный иммунитет и создают защитный эффект в отношении инфекционных агентов, которые инактивируются в основном благодаря реакциям клеточного иммунитета [6]. Поскольку цитокины яв-

ляются локальными медиаторами, более целесообразно измерять их уровни в соответствующих тканях или в естественных жидкостях. При этом, контролируя уровень соотношения оппозиционных цитокинов при местных воспалительных процессах в ходе проводимого лечения, можно оценить эффективность терапии и прогнозировать исход воспалительного процесса [2].

Целью настоящей работы являлось изучение клинико-морфологических параметров при ХВГ во взаимосвязи с показателями локального статуса цитокинов в супернатантах гепатобиоптатов.

Обследовано 37 впервые выявленных и ранее не леченных больных (6 женщин и 31 мужчина) в возрасте от 19 до 40 лет с ХВГ. У 10 из них диагностирован ХВГ В, у 16 — ХВГ С и у 11 — ХВГ смешанной этиологии (В+С). У всех пациентов при иммуноферментном анализе и полимеразной цепной реакции выявлены маркеры репликации вируса. Продолжительность болезни, по данным эпидемиологического анамнеза, колебалась от 10 до 39 мес. Гепатит в большинстве случаев протекал в легкой и среднетяжелой форме, характеризовался астеновегетативным, диспепсическим и интоксикационным синдромами. Больные предъявляли жалобы на слабость, быструю утомляемость, периодически возникающую тошноту, плохую переносимость пищи и др. Эти симптомы сочетались с тяжестью в правом подреберье. У части пациентов пальпировались печень и селезенка, наблюдались транзиторная гипербилирубинемия с преобладанием связанной фракции и гипертрансфераземия. При ультразвуковом исследовании выявляли увеличение и выраженные диффузные изменения в печени, что в сочетании с морфологическими изменениями (дистрофия, некрозы, воспалительная инфильтрация, фиброз) подтверждало диагноз ХВГ.

ХВГ В характеризовался выраженными субъективными и клиническими проявлениями. У большинства пациентов присутствовали астеновегетативные реакции, диспепсические расстройства, пальпировалась увеличенная печень. У половины больных отмечался легкий зуд кожи, сопровождавшийся повышенной активностью щелочной фосфатазы и гамма-глутамилтрансферазы, кратковременной гипербилирубинемией. Гипертрансфераземия у всех больных ХВГ В в 2-4 раза превышала норму. В биоптатах печени инфильтраты в портальных трактах были преимущественно лимфоцитарно-плазмоцитарными (рис. 1, а). В 2 случаях зарегистрированы ступенчатые некрозы.

У всех больных ХВГ С (генотипы 1b и 3a) клинические проявления характеризовались более легким течением по сравнению с клинически манифестными вариантами ХВГ В и ХВГ В+С. У большинства пациентов преобладали астеновегетативные проявления. Практически во всех случаях отмечено повышение активности трансаминаз. У 10 человек их исходный уровень колебался в пределах двух норм, у 7 — был выше трех норм. В 18,8% случаев выявлена желтуха с 2-кратным увеличением уровня билирубина в крови.

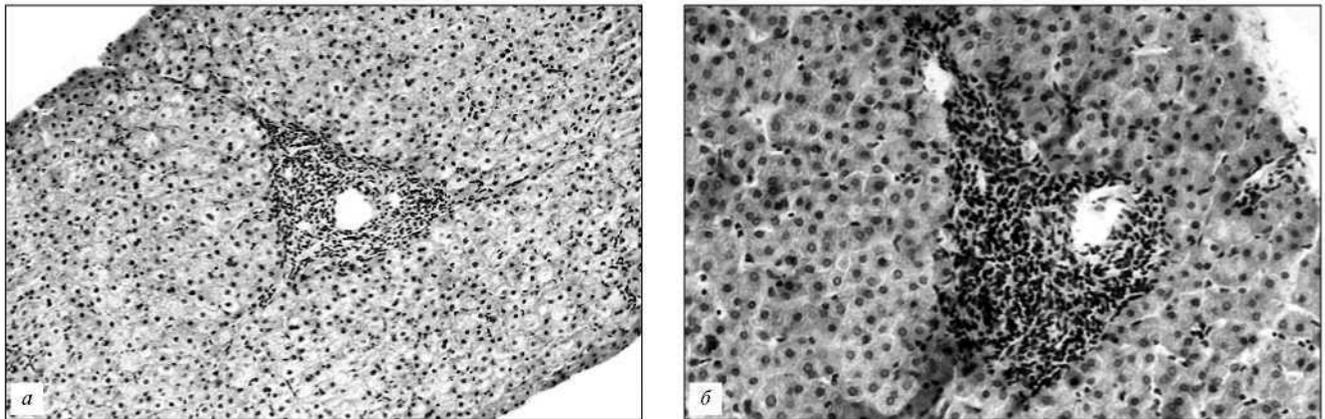


Рис. 1. Морфологические изменения в печени при ХВГ.

а - ХВГ В: умеренная мононуклеарная инфильтрация портального тракта, не выходящая за пределы пограничной пластинки, $\times 100$; б - ХВГ С: выраженная инфильтрация портального тракта, выходящая за пределы пограничной пластинки, $\times 200$. Окр. гематоксилином и эозином.

В биоптатах печени при ХВГ С преимущественно регистрировалась умеренная и выраженная лимфоидно-макрофагальная инфильтрация портальных трактов (рис. 1,б). При ультразвуковом исследовании у всех больных ХВГ С наблюдались гепатомегалия и умеренно выраженные диффузные изменения печени.

У больных с микст-инфицированием заболевание протекало однотипно и характеризовалось различной степени выраженности астеновегетативным, суставным и диспепсическим синдромами. У большинства пациентов пальпировалась увеличенная печень, у половины — селезенка. В 2/3 случаев наблюдались умеренные гипербилирубинемия с преобладанием связанной фракции, у всех пациентов зарегистрирована гипертрансфераземия. Патоморфологические изменения в печени при ХВГ В+С в отличие от моногепатитов характеризовались более выраженными воспалительными и некротическими изменениями паренхимы. Клеточная реакция и дистрофия гепатоцитов были преимущественно умеренно выраженными.

В группах пациентов с ХВГ В и С не выявлено отличий в показателях активности воспалительного процесса и выраженности фиброза. В то же время активность процесса была статистически достоверно выше при микст-гепатите В+С в отличие от моногепатитов В и С. При этом выраженность фиброза в исследуемых группах статистически достоверно не различалась (табл. 1).

Исследование локального уровня цитокинов: интерлейкинов (ИЛ) 1а, 2, 4, 12р40, 12р70, интерферона-у (ИФН-у), фактора некроза опухоли-а (ФНО-а)

в супернатантах гепатобиоптатов проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью диагностических наборов R&D Diagnostics Inc. (USA). Расчеты количества цитокинов проводили путем построения калибровочной кривой с помощью компьютерной программы. В качестве контроля использовались образцы печеночной ткани 5 доноров, не имевших хронических заболеваний и маркеров инфицирования вирусами парентеральных гепатитов. Учитывая небольшие пределы разброса показателей, мы сочли возможным ограничиться этим количеством исследований (необходимо принять во внимание сложность и специфику забора материала). Оценку результатов проводили с использованием статистических приемов для малых выборок. Для определения различий между отдельными группами обследованных лиц применяли однофакторный дисперсионный анализ. Статистическая обработка полученных материалов произведена с применением прикладных компьютерных программ BIOSTAT. О степени выраженности связи тяжести морфологических изменений в печени при ХВГ с уровнем содержания локальных цитокинов судили по степени корреляционной связи с помощью коэффициента Спирмена.

Результаты дисперсионного анализа и оценка индивидуальных значений уровня локального ИФН-у и ИЛ-2 у пациентов с ХВГ В не выявили между группами больных и контролем достоверной разницы. Исследуемые показатели были значительно снижены в группах больных с ХВГ С и ХВГ В+С по сравнению с контролем. При исследовании супернатантов биоптатов печени у всех больных было установлено достоверное увеличение содержания ИЛ-1а, ИЛ-4, ФНО-а, в сравнении с контролем. Так, уровень ИЛ-4 у больных гепатитом С и микст-гепатитом В+С более чем в 10 раз превышал показатель у здоровых. Также в этих группах высоким был уровень ИЛ-1а и ФНО-а. Концентрация ИЛ-10 не превышала нормальных значений в группе больных с ХВГ В, в то время как у других больных он был выше нормы в 2 и более раза. При этом значения исследуемого показателя достоверно

Таблица 1
Активность воспаления и выраженность склероза при хронических вирусных гепатитах

Показатель*	ХВГ В	ХВГ С	ХВГ В+С
ИГА	5,1±0,4	6,0±0,5	7,6±0,3
ГИС	1,2±0,3	1,6±0,3	2,3±0,4

* ИГА - индекс гистологической активности, ГИС - гистологический индекс склероза (в баллах по R. Knodelletal., 1981).

Таблица 2

Содержание цитокинов в биоптатах печени у больных ХВГ, пг/мл

Цитокин	Контроль	ХВГ В	ХВГ С	ХВГ В+С
ИЛ-1а	16,4±0,6	55,1±8,9*	67,2±5,9*	88,4±7,5*
ИЛ-2	29,0±2,8	25,0±3,1	16,2±2,1*	9,8±1,6*
ИЛ-4	55,0±9,4	165,5±35,3*	320,7±51,4*	698,1±103,6*
ИЛ-10	139,4±13,2	149,6±8,4	226,2±10,1*	393,5±31,8*
ИЛ-12p40	6,8±0,9	29,9±4,2*	160,4±24,5*	1803,0±295,1*
ИЛ-12p70	0,3±0,03	1,5±0,4*	24,2±5,6*	223,7±39,1*
ФНО-а	4,9±1,4	28,0±2,7*	71,0±15,1*	120,0±29,5*
ИФН-у	64,4±2,9	58,3±3,2	19,2±2,9*	6,9±1,8*

* Различия статистически достоверны по сравнению с контролем.

Таблица 3

Корреляция и уровни ее значимости между гистологической активностью, склерозом и содержанием цитокинов при ХВГ*

Цитокин	Индекс гистологической активности						Гистологический индекс склероза					
	ХВГ В		ХВГ С		ХВГ В+С		ХВГ В		ХВГ С		ХВГ В+С	
	R	p	R	p	R	P	R	p	R	p	R	P
ИЛ-10с	0,97	0,001	0,91	0,001	0,99	0,001	0,14	0,7	0,33	0,2	0,68	0,001
ИЛ-2	0,96	0,001	0,91	0,001	0,99	0,001	0,28	0,4	0,22	0,4	0,95	0,001
ИЛ-4	0,26	0,4	0,87	0,001	0,98	0,001	0,05	0,9	0,19	0,4	0,97	0,001
ИЛ-10	0,28	0,4	0,08	0,8	0,24	0,47	0,31	0,4	0,62	0,001	0,04	0,9
ИЛ-12p40	0,10	0,8	0,09	0,7	0,7	0,02	0,18	0,6	0,09	0,7	0,93	0,001
ИЛ-12p70	0,14	0,7	0,33	0,2	0,8	0,001	0,24	0,5	0,29	0,3	0,98	0,001
ФНО-а	0,83	0,001	0,97	0,001	0,98	0,001	0,3	0,4	0,3	0,3	0,98	0,001
ИФН-у	0,96	0,001	0,97	0,001	0,98	0,001	0,17	0,6	0,3	0,2	0,96	0,001

* R — коэффициент корреляции (Спирмена), p — критерий достоверности разности.

различались в группах больных с моно- и микст-гепатитами В и С. Установлено значительное увеличение локального содержания ИЛ-12p40 и ИЛ-12p70 во всех исследуемых группах больных. Их максимальные значения, превышающие показатели здоровых более чем в 200 раз, зарегистрированы у лиц с микст-гепатитом. При сравнении уровней содержания других цитокинов в группах больных с ХВГ В, ХВГ С и ХВГ В+С обнаружено их достоверное отличие, в особенности между ХВГ В и микст-гепатитом. Не наблюдалось отличий в содержании ИЛ-1а у больных с ХВГ В и ХВГ С, а также ФНО-а у больных с ХВГ С и ХВГ В+С (табл. 2).

Максимальная степень корреляционной связи между активностью патологического процесса и выраженностью склероза зафиксирована с показателями ИЛ-1а, ИЛ-2, ИФН-у в группе ХВГ В, что свидетельствует о выраженности воспалительной активности. Аналогичные корреляционные связи обнаруживались при ХВГ С и В+С. При этом в исследуемых группах выраженность гистологической активности сопровождалась значительным увеличением содержания локального ФНО-а и ИЛ-4. Кроме этого, у больных с микст-гепатитом отмечена

максимальная степень корреляционной связи индекса гистологической активности и уровня ИЛ-12p70, что могло приводить к избыточной активации иммунной системы с иммунопатологическими последствиями (табл. 3).

Анализ корреляционных взаимоотношений уровней некоторых локальных цитокинов и гистологического индекса склероза показал их отсутствие в группе больных с ХВГ В. При ХВГ С выявлена максимальная корреляционная связь между выраженностью фиброза и содержанием локального противовоспалительного ИЛ-10, ингибирующего продукцию ИФН-у и весь Th1-ответ. Это в свою очередь приводит к прогрессированию хронического процесса в печени. Несмотря на то, что при изучении выраженности фиброза в группах больных с моно- и микст-гепатитами не было выявлено достоверных отличий, в группе больных с микст-гепатитом, в отличие от моногепатитов В и С, наблюдалась ярко выраженная корреляционная связь между степенью фиброза и всеми цитокинами, что указывает здесь на более тяжелое прогрессирующее течение в основном за счет большей выраженности порто-перипортальных изменений, обуславливающих

активность заболевания. Сочетанная В+С-инфекция является значимым фактором риска развития выраженного склероза и цирроза печени.

Таким образом, на основании результатов исследований и литературных данных можно заключить, что при хронических вирусных гепатитах деструктивный процесс в печени, ведущий к прогрессирующему фиброзу и циррозу органа, обусловлен цитокиноопосредованными механизмами.

Литература

1. Буеверов А.О. // *Российский журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* — 1998. — № 5. — С. 18-21.
2. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. // *Цитокины и воспаление.* — 2003. — Т. 2, № 3. — С. 20-35.
3. Ивашкин В.Т. // *Российский журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* — 1998. — № 5. — С. 13-17.

4. Шерлок Ш., Дули Дж. *Заболевания печени и желчных путей.* — М.: Гэзтар Медицина, 1999.
5. Ярилин А.А. // *Иммунология.* — 1997. — № 5. — С. 7-13
6. Berenguer M., Wright T.L. // *Gut.* — 1998. — Vol. 42. — P. 456-458.

Поступила в редакцию 10.11.04.

CLINICOPATHOLOGIC AND IMMUNOLOGIC PARALLELS UNDER CHRONIC VIRAL HEPATITIS

Yu. V. Kaminsky, L. F. Sklyar, E. V. Markelova, O. G. Polushin
Vladivostok State Medical University

Summary — Based on 37 observations the authors have studied the level of local cytokines in supernatants of liver biopsies under the conditions of chronic viral hepatitis and showed correlations between the levels of different cytokines and the degree of inflammatory manifestation and sclerosis. They came to a conclusion about cytokine-mediated mechanisms of necrotic inflammatory and fibroplastic processes in liver under chronic viral hepatitis.

Pacific Medical Journal, 2005, No. 1, p. 17-20.

УДК 616.329-002-008.843.3]-06:616.379-008.64:616.33-002.44

Ю.Л. Федорченко

ГАСТРОЭЗОФАГИАЛЬНАЯ РЕФЛЮКСНАЯ БОЛЕЗНЬ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ И ПРИ ЕГО СОЧЕТАНИИ С ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Дальневосточный государственный медицинский университет (г. Хабаровск)

Ключевые слова: рефлюксная болезнь, сахарный диабет, язвенная болезнь.

В последние годы гастроэзофагиальная рефлюксная болезнь (ГЭРБ) привлекает к себе внимание гастроэнтерологов всего мира. Это обусловлено широкой распространенностью данного заболевания среди взрослого населения развитых стран [7, 12]. Кроме того, ГЭРБ стоит в ряду болезней, которые существенно ухудшают качество жизни трудоспособного населения [9].

Со времени Генвальдского соглашения по ГЭРБ (Бельгия, 1999) в отечественной гастроэнтерологии изменились представления об этой патологии. Значительным шагом вперед было принятие на IV съезде научного общества гастроэнтерологов России «Московского соглашения 2004» по диагностике и лечению кислотозависимых заболеваний, в том числе ассоциированных с *Helicobacter pylori*. В данном соглашении ГЭРБ рассматривается как прогрессирующее заболевание с обязательным воспалительно-дегенеративным поражением пищевода (на ранней стадии болезни эзофагит может не определяться) [5].

Известно, что в основе этого заболевания лежит патологический гастроэзофагиальный рефлюкс вследствие различных причин, в том числе недостаточности нижнего сфинктера пищевода. Данный дефект в работе мышечного замыкательного аппарата

этого отдела желудочно-кишечного тракта в большой мере связывают с нарушением функционирования автономной нервной системы, которая может стать мишенью при неблагоприятном как экзогенном, так и эндогенном воздействии [5, 11]. Одним из тяжелых заболеваний, способных поразить вегетативную нервную систему человека, является сахарный диабет (СД) [1]. Диабетическая полинейропатия и автономная нейропатия стоит в числе серьезных осложнений этого эндокринного заболевания [2, 6, 8]. В литературе, посвященной поражению пищевода при СД, в основном речь идет о дискинезии, дисфагии и нет данных о развитии ГЭРБ [4, 13, 14].

Ранее было установлено, что при СД I и II типов чаще, чем в общей популяции, встречаются хронические гастродуоденальные язвы (в 11,2% случаев) [10]. Одними из основных жалоб больных с сочетанием СД и язвенной болезни (ЯБ) являются изжога и отрыжка кислым, при этом повышенная кислотность содержимого желудка, по данным рН-метрии, встречается существенно реже, чем вышеназванные жалобы. Это позволяло предположить развитие патологического гастроэзофагеального рефлюкса у данных пациентов. Следует отметить, что в литературе не найдено работ, в которых бы затрагивалась подобная проблема.

Цель исследования состояла в выявлении ГЭРБ у больных СД и при сочетании СД и ЯБ. Выбор двух вышеназванных групп пациентов был обусловлен также желанием проследить, как изменяется частота и клиника ГЭРБ при присоединении к СД ЯБ.

Обследовано 68 больных СД. СД I типа диагностирован у 32 (возраст $32,8 \pm 4,6$ года), СД II типа — у 36 человек (возраст $54,8 \pm 7,1$ года). В исследование не включали больных, которые страдали хроническими или острыми, клинически проявляющимися заболеваниями гастродуоденальной зоны. Каждому типу СД соответствовала своя контрольная группа практически здоровых лиц, примерно равного возраста и пола (всего 22 человека).