

УДК 616.36-002.14: 578.891]-078.33

## ФАКТОР НЕКРОЗА ОПУХОЛИ-АЛЬФА, ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ИММУННЫЕ КОМПЛЕКСЫ И ФАГОЦИТОЗ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ С

И. А. Булатова<sup>1</sup>, А. П. Щёктова<sup>1</sup>, А. В. Кривцов<sup>2</sup>, В. В. Щёкотов<sup>1</sup>,  
Н. И. Насибуллина<sup>1\*</sup>, Е. А. Калугина<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Пермская государственная медицинская академия им. ак. Е. А. Вагнера,

<sup>2</sup>Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения,

<sup>3</sup>Городская клиническая больница №4, г. Пермь, Россия

## TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA, CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES AND PHAGOCYTOSIS IN CHRONIC HEPATITIS C

I. A. Bulatova<sup>1</sup>, A. P. Schekotova<sup>1</sup>, A. V. Krivtsov<sup>2</sup>, V. V. Schekotov<sup>1</sup>, N. I. Nasibullina<sup>1\*</sup>,  
E. A. Kalugina<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Perm State Academy of Medicine named after Academician E. A. Wagner,

<sup>2</sup>Federal Scientific Center of Medical Preventive Technologies for Management of Population Health Risks,

<sup>3</sup>City Clinical Hospital №4, Perm, Russian Federation

---

**Цель.** Изучить уровни фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- $\alpha$ ), циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), параметры фагоцитоза и их взаимосвязи с функциональными печеночными тестами у пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС).

**Материалы и методы.** Обследовано 90 больных ХГС и 20 практически здоровых лиц. В сыворотке крови исследовали функциональные печеночные пробы, концентрацию ФНО- $\alpha$  и ЦИК методом ИФА. В плазме крови изучали фагоцитарную активность лейкоцитов, фагоцитарный индекс и фагоцитарное число.

**Результаты.** У пациентов с ХГС обнаружено достоверное, по сравнению с группой контроля, повышение концентрации ФНО- $\alpha$  и уровня ЦИК: 1,9 пг/мл (*min* – 1,1; *max* – 4,2) и 54,5% (36–80) соответственно. Фагоцитарная активность лейкоцитов и фагоцитарное число были снижены по сравнению с нормой ( $p=0,0001$ ,  $p=0,02$ ). Выявлены достоверные взаимосвязи между ФНО- $\alpha$ , ЦИК, депрессией фагоцитоза и показателями печеночных синдромов цитолиза и холестаза.

**Выводы.** Выраженность иммуновоспалительного синдрома взаимосвязана с тяжестью поражения печени при ХГС.

**Ключевые слова.** Фактор некроза опухоли-альфа, циркулирующие иммунные комплексы, фагоцитоз, цитолиз, холестаз, хронический гепатит С.

---

© Булатова И. А., Щёктова А. П., Кривцов А. В., Щёкотов В. В., Насибуллина Н. И., Калугина Е. А., 2014  
e-mail: nata.nasibullina@yandex.ru

тел. 8 912 49 13 364

[Булатова И. А. – кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС; Щёктова А. П. – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС; Кривцов А. В. – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией иммуногенетики; Щёкотов В. В. – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской терапии №2; Насибуллина Н. И. (\*контактное лицо) – аспирант кафедры факультетской терапии №2; Калугина Е. А. – заведующая клинико-диагностической лабораторией, врач клинической лабораторной диагностики].

**Aim.** To study tumor necrosis factor-alpha (TNF $\alpha$ ), circulating immune complex (CIC) levels, phagocytosis parameters and their correlation with functional hepatic tests in patients with chronic hepatitis C (CHC),

**Materials and methods.** 90 patients with CHC and 20 practically healthy persons were examined. Blood serum functional hepatic tests, TNF $\alpha$  and CIC concentrations were studied using immunoferrmental analysis (IFA) method. Blood plasma phagocytic leukocyte activity, phagocytic index and phagocytic number were investigated.

**Results.** In CHC patients, there was a reliable compared to the control group increase in TNF $\alpha$  concentration and CIC level: 1,9 pg/ml (min – 1,1; max – 4,2) and 54,5% (36–80), respectively. Phagocytic leukocyte activity and phagocytic number were lowered compared to the norm ( $p=0,0001$ ,  $p=0,02$ ). Significant correlations between TNF $\alpha$ , CIC, phagocytosis depression and hepatic cytolysis and cholestasis indices were detected.

**Conclusion.** Expression of immunoinflammatory syndrome correlates with severity of hepatic lesion in CHC patients.

**Key words.** Tumor necrosis factor-alpha, circulating immune complex, phagocytosis, cytolysis, cholestasis, chronic hepatitis C.

## ВВЕДЕНИЕ

Изучение механизмов патогенеза хронических вирусных заболеваний печени на фоне роста этой патологии в мире является актуальной задачей гепатологии. В основе повреждения печени при HCV-инфекции лежит комбинация прямого цитопатического и иммуноопосредованного клеточного повреждения, индуцируемого вирусом [2]. Считается, что нарушение структуры печени с развитием в ней некротических и фибротических изменений связано с уровнем продукции провоспалительных цитокинов – интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- $\alpha$ ) [3]. Известно, что ФНО- $\alpha$  участвует в процессах деструкции и репарации тканей на фоне воспаления, а его повышенный уровень наблюдается при вирусных и бактериальных инфекциях, онкологических заболеваниях и многих воспалительных реакциях. В период обострения заболеваний желудочно-кишечного тракта концентрация ФНО- $\alpha$  в сыворотке превышает норму в среднем в 10 раз, а у отдельных больных – в 75–80 раз [5]. Среди клеток, осуществляющих неспецифические иммунные реакции, в формировании раннего воспалительного ответа при вирусном повреждении печени принимают участие нейтрофилы. Известен факт снижения фагоцитарной активности

лейкоцитов при хронических заболеваниях печени, что может быть обусловлено влиянием вирусной инфекции и эндогенной интоксикации. При ХГС снижение функциональной активности нейтрофилов на фоне развития коррелирует с интенсивностью оксидативного стресса и усилением цитолитического синдрома, вызванного последним [1]. ФНО- $\alpha$  также вызывает изменение активности ферментов клеток, участвующих в осуществлении фагоцитарных реакций [7]. В проведенных ранее исследованиях нами было выявлено снижение фагоцитарной активности лейкоцитов и абсолютного фагоцитоза у больных ХГС, взаимосвязанных с повышением концентрации макрофагального хемоаттрактантного протеина-1, который тормозит фагоцитоз опосредованно, через активацию выработки ФНО- $\alpha$  макрофагами [6]. Фагоцитарные показатели могут являться предикторами эффективности противовирусной терапии [1]. Поражение печени вирусом может приводить к запуску аутоиммунных механизмов и образованию циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Элиминация ЦИК происходит через ретикулоэндотелиальную систему, в том числе в печени. Вследствие клиренса ЦИК печенью может развиваться цитотоксический эффект в отношении купферовских клеток и гепатоцитов. Кроме того, поглощение ЦИК фаго-

цитами сопровождается истощением механизмов фагоцитоза для других агентов и вызывает развитие вторичного иммунодефицита. Уровень ЦИК дает определенное представление об активности иммунного воспаления и позволяет оценить эффективность проводимой терапии [4]. Углубление знаний о взаимосвязи параметров иммунного воспаления и функционального состояния печени важно для анализа закономерностей развития инфекционного процесса при ХГС и оценки эффективности терапии.

*Цель исследования* – изучить уровни ФНО- $\alpha$ , ЦИК, параметры фагоцитоза и их взаимосвязи с функциональными печеночными тестами у пациентов с ХГС.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 90 пациентов с ХГС в фазе реактивации. Средний возраст –  $38,3 \pm 10,4$  г., 48% из них были мужчины и 52% – женщины. Аналогичная по половому составу контрольная группа включала 20 практически здоровых лиц со средним возрастом  $36,3 \pm 7,9$  г., не имеющих заболеваний гепатобилиарной системы.

Биохимические показатели в сыворотке крови определяли на автоматическом анализаторе Architect-4000 (США). Концентрацию ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови выявляли методом ИФА с использованием одноименного набора ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск) на фотометре Stat-Fax-2100 (США). ЦИК исследовали с использованием набора «ЦИК-Хема» производства ООО «Хема» (Москва) на фотометре Stat-Fax-2100. Показатели фагоцитоза – фагоцитарную активность лейкоцитов (ФАЛ), фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ) – подсчитывали с использованием формализированных эритроцитов барана у 30 больных ХГС и 20 практически здоровых лиц.

Полученные результаты обрабатывали с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft). Проверку нормальности распределения результатов проводили по критерию Колмогорова–Смирнова. При нормальном распределении данных использовали методы описательной статистики с расчетом среднего арифметического ( $M$ )  $\pm$  одно стандартное отклонение ( $SD$ ), минимума ( $min$ ) и максимума ( $max$ ) значений для каждой выборки. Для оценки значимости различий независимых групп при нормальном распределении результатов применяли параметрический критерий Стьюдента. Для описания полученных количественных признаков, имеющих распределение, отличное от нормального (было асимметричным), данные представляли в виде медианы ( $Me$ ) и 25-го и 75-го перцентиля, минимума ( $min$ ) и максимума ( $max$ ). Так как распределение показателей ФНО- $\alpha$  и ЦИК отклонялось от нормального, для оценки значимости различий независимых групп использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Количественная оценка линейной связи ( $r$ ) между двумя независимыми величинами определялась по Спирмену. Различия между выборками и значимость взаимосвязей считались достоверными при значениях для  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании функциональных печеночных проб у пациентов с ХГС был выявлен синдром цитолиза, который характеризовался увеличением в сыворотке крови активности аланиновой (АЛТ) (до  $76,41 \pm 54,23$  Ед/л) и аспарагиновой трансаминаз (АСТ) (до  $48,61 \pm 32,26$  Ед/л), отличия в обоих случаях от контрольной группы были достоверны ( $p < 0,0001$ ). Увеличение тимоловой пробы, связанное с диспротеинемией на фоне мезенхимально-воспалительного син-

дрома, достигло  $7,5 \pm 3,7$  ед. ( $p < 0,0001$ ). Концентрация наиболее чувствительного маркера холестаза –  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы (ГТП) – также была выше таковой в группе контроля:  $46,32 \pm 48,83$  Ед/л ( $p < 0,002$ ). У ряда больных была повышена концентрация щелочной фосфатазы и билирубина, но в целом эти показатели в основной группе не отличались от данных группы контроля.

У пациентов с ХГС в фазе реактивации инфекции обнаружено значимое по сравнению с группой контроля увеличение концентрации ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови до 1,9 (1,1–4,2) пг/мл ( $p < 0,0001$ ) (табл. 1). Анализ результатов определения показал, что уровень ФНО- $\alpha$  был повышен у 94% пациентов.

У больных ХГС в фазе реактивации инфекции выявлено достоверное повышение содержания в крови ЦИК до 54,5% (36–80) за счет аутоиммунного компонента воспаления по сравнению с группой практически здоровых лиц. ФАЛ при ХГС была достоверно

снижена по сравнению с нормой ( $p = 0,0001$ ). На фоне снижения количества фагоцитов среднее значение ФИ было в пределах нормы. ФЧ при ХГС было достоверно снижено по сравнению с таковым в контрольной группе ( $p = 0,02$ ) (см. табл. 1). Снижение ФАЛ и ФЧ может быть связано с увеличением выработки ФНО- $\alpha$ , который вызывает угнетение активности ферментов клетки, участвующих в осуществлении фагоцитарных реакций [7].

При проведении корреляционного анализа в группе больных выявлены многочисленные взаимосвязи между показателями ФНО- $\alpha$ , уровнем ЦИК, тестами фагоцитоза и биохимическими печеночными пробами (табл. 2).

Обнаружены достоверные прямые корреляции концентрации ФНО- $\alpha$  с уровнем АЛТ, АСТ, тимоловой пробой, общим и прямым билирубином, щелочной фосфатазой, ГТП. Полученные результаты свидетельствуют, что при ХГС в фазе реактивации ФНО- $\alpha$  отражается тяжесть поражения печени, так как повышение его концентрации взаимосвязано

Таблица 1

### ФНО- $\alpha$ , ЦИК и показатели фагоцитоза в сыворотке крови у больных ХГС

Показатель	Значение $M \pm SD$ [min- и max-величины показателя]		$p$
	Медиана (25–75% перцентилей) [min- и max-показателя]		
	Группа контроля	Пациенты с ХГС	
ФНО- $\alpha$ , пг/мл	0,00 (0,00–0,00); [0,00–0,1]	1,9 (1,1–4,2); [0,1–68,9]	<0,0001*
ЦИК, %	27,5 (22–35); [15–48]	54,5 (36–80); [20–118]	0,0001*
ФАЛ, %	57,07 $\pm$ 12,21; [33–78]	39,39 $\pm$ 13,4; [17–69]	0,0001**
ФИ	1,97 $\pm$ 0,26; [1,58–2,4]	2,02 $\pm$ 0,58; [1,25–3,3]	0,7**
ФЧ	0,96 $\pm$ 0,09; [0,86–1,13]	0,72 $\pm$ 0,21; [0,45–1,13]	0,02**

Примечание:  $p^*$  – значимость различий показателя при ХГС и в группе контроля по Манну–Уитни,  $p^{**}$  – значимость различий показателя в исследуемых группах по Стьюденту.

Таблица 2

### Корреляции ФНО- $\alpha$ , ЦИК, параметров фагоцитоза и биохимических тестов при ХГС

Показатель	$r$	$p$
ФНО- $\alpha$ и АЛТ	0,23	0,03
ФНО- $\alpha$ и АСТ	0,39	0,0001
ФНО- $\alpha$ и тимоловая проба	0,21	0,04
ФНО- $\alpha$ и общий билирубин	0,34	0,001
ФНО- $\alpha$ и прямой билирубин	0,32	0,003
ФНО- $\alpha$ и щелочная фосфатаза	0,15	0,048
ФНО- $\alpha$ и ГТП	0,16	0,04
ЦИК и ФАЛ	–0,86	0,001
ЦИК и ФЧ	–0,62	0,049
ФЧ и щелочная фосфатаза	–0,68	0,03
ФИ и ФЧ	0,85	0,007
ФАЛ и ФИ	–0,24	0,045

Примечание:  $r$  – коэффициент взаимосвязи показателей;  $p$  – значимость корреляции.

с выраженностью цитолиза, холестаза и диспротеинемией на фоне мезенхимально-воспалительного синдрома.

ЦИК и показатели фагоцитоза имеют достоверную обратную связь, то есть при увеличении образования ЦИК в фазу реактивации ХГС снижается интенсивность фагоцитоза. ФАЛ, сниженная у больных, имеет обратную достоверную связь с ФИ, что может быть обусловлено нарушением регуляции активности щелочной фосфатазы, которая повышается при холестазе в сыворотке крови, но этот же фермент является компонентом гранул нейтрофилов и участвует в обеспечении фагоцитоза. Выявлена обратная достоверная взаимосвязь ФЧ и щелочной фосфатазы. Возможно, это связано с влиянием желчных кислот, которые являются сильными детергентами и тоже увеличиваются при холестазе, снижая активность фагоцитоза. Влияние на фагоцитоз может оказывать и перекисное окисление липидов, интенсивность которого увеличена при ХГС [1].

Таким образом, комплексное изучение выраженности иммуновоспалительного синдрома позволяет оценить изменения функционального состояния печени в фазу реактивации ХГС [4].

### Выводы

1. При ХГС в фазе реактивации повышение уровней ФНО- $\alpha$  и ЦИК взаимосвязано с выраженностью синдромов цитолиза и холестаза.

2. Такие показатели фагоцитоза, как ФАЛ и ФЧ, у больных ХГС снижены и демонстрируют обратную взаимосвязь с уровнем ЦИК, а ФЧ – с биохимическим маркером холестаза – щелочной фосфатазой.

3. Исследование концентрации ФНО- $\alpha$ , уровня ЦИК и показателей фагоцитоза при ХГС в фазе реактивации может дать дополнительную информацию для оценки выраженности иммуновоспалительного синдрома и тяжести поражения печени.

### Библиографический список

1. Го А. Значение показателей оксидативного стресса и фагоцитоза при хроническом гепатите С: автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб. 2011; 17.
2. Ивашкин В.Т. Иммунная система и повреждения печени при хронических гепатитах В и С. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии 2009; 19 (6): 4–10.
3. Каплина Н.А., Жукова Е.А., Романова С.В., Маянская И.В. Изменения клинических показателей и цитокинового статуса у детей с хроническими вирусными гепатитами В и С на фоне противовирусной терапии. Цитокины и воспаление 2011; 10 (3): 130–134.
4. Погодина О.В. Клинико-иммунологическая характеристика хронических гепатитов В и С и оценка эффективности их лечения у детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Челябинск 2007; 21.
5. Царегородцева Т.М. Цитокины и цитокиноterapia при заболеваниях органов пищеварения. Терапевтический архив 2004; 4: 69–72.
6. Щёктова А.П., Щекотов В.В., Булатова И.А., Латышева С.Э., Ненашева О.Ю., Кривцов А.В., Ларионова Г.Г. Моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1, фагоцитоз, маркеры эндотелиальной дисфункции и фиброза при хроническом гепатите и циррозе печени. Современные проблемы науки и образования (электронный журнал) 2011; 5, available at: [www.science-education.ru/99-4852](http://www.science-education.ru/99-4852).
7. Bautista AP. Chronic alcohol intoxication primes Kupffer cells and endothelial cells for enhanced CC-chemokine production and concomitantly suppresses phagocytosis and chemo taxis. Front Biosci. 2002; 7: 117–125.

Материал поступил в редакцию 30.12.2013