УДК 616.36-003.826: 616.319-008.64]:616.36

О. С. Хухліна

Буковинська державна медична академія, м. Чернівці

ЦИТОКІНОВІ АСПЕКТИ ПРОГРЕСУВАННЯ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТУ У ХВОРИХ ІЗ СИНДРОМОМ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ

***Ключові слова**: неалкогольний стеатогепатит, цукровий діабет, ожиріння, інсулінорезистентність, цитокіни, ліпіди крові, функції ендотелію.*

***Резюме.** У статті викладені результати дослідження ймовірної ролі прозапальних цитокінів: фактора некрозу пухлин-альфа, інтерлейкіну-1, трансформуючого фактора росту-бета у крові в механізмах розвитку та прогресування неалкогольного стеатогепатиту у хворих із синдромом інсулінорезистентності. Підвищення вмісту в крові хворих на неалкогольний стеатогепатит профіброгенних цитокінів у щільній взаємозалежності корелює з активністю цитолітичного синдрому, інтенсивністю фіброзувальних реакцій у печінці, ступенем інсулінорезистентності, гіперліпідемії, вмістом у крові лептину, показниками ендотеліальної дисфункції.*

Вступ

Найбільш важливими ланками патогенезу неалкогольного стеатогепатиту (НАСГ), який часто ускладнює перебіг цукрового діабету типу 2 та ожиріння, є порушення процесів метаболізму, запалення та фіброгенез [1, 2, 4]. Причому, інтенсивність останнього визначає прогноз захворювання. В основі прогресування фіброзу печінки лежить активація перисинусоїдальних зірчастих клітин (ПЗК) – колагенпродукувальних клітин Іто простору Діссе, що призводить до так званої „капіляризації» синусоїда. Серед чинників, що сприяють активації ПЗК печінки при НАСГ, таких, як ендогенна інтоксикація, периферійна тканинна інсулінорезистентність (ІР) [10], лактатацидоз; неконтрольована агресія активними формами кисню за умов недостатності системи протиоксидантного захисту (ПОЗ) [5, 6], важливу роль, за даними багатьох авторів, відіграє цитокіновий дисбаланс із переважанням активності прозапальних цитокінів [3, 7, 8, 11].

На сьогоднішній день ще не визначено специфічних медіаторів фіброгенезу при жировій дистрофії печінки, однак вчені вказують на фактор некрозу пухлин-альфа (TNF-альфа) та низку інтерлейкінів як посередників пошкодження гепатоцитів, ініційованого ендотоксинами в експериментальних моделях. Прямі фіброгенні властивості TNF-альфа не встановлені, однак теоретично доведена паракринна активація ПЗК активованими TNF-альфа клітинами Купфера [7, 8]. Водночас, сьогодні немає однозначної думки про роль цитокінової взаємодії з іншими індукторами фіброгенезу у механізмах прогресування фіброзу печінки при НАСГ у хворих із синдромом ІР.

© *О. С. Хухліна, 2004*

Мета дослідження

Встановити роль прозапальних цитокінів у розвитку та прогресуванні неалкогольного стеатогепатиту у хворих на цукровий діабет типу 2 та ожиріння шляхом виявлення ймовірного взаємозв'язку між вмістом в крові прозапальних цитокінів та ступенем відносної інсулінової недостатності, показниками ліпідного, вуглеводного обміну, ендотеліальної дисфункції, інтенсивністю гіперпродукції позаклітинного матриксу.

Матеріал і методи

Обстежено 90 хворих на неалкогольний стеатогепатит. Хворі були розподілені на 2 групи, репрезентативні за віком та статтю. Першу групу склали 45 хворих на НАСГ м'якої активності, що виник на тлі ожиріння II-III ступеня, другу групу склали 45 хворих на НАСГ м'якої активності, що виник на тлі цукрового діабету (ЦД) 2 типу, середнього ступеня тяжкості, субкомпенсованого, віком від 35 до 60 років. Групу контролю склали 30 практично здорових осіб (ПЗО), віком від 37 до 60 років. Діагноз НАСГ встановлювали на основі анамнестичних, клінічних, біохімічних даних, визначення

маркерів вірусів гепатиту B, C, D, ультразвукового та морфологічного дослідження [1, 6]. Хворі на хронічний стеатогепатит вірусної та алкогольної етіології у дослідження не включалися.

Вміст цитокінів: трансформуючого фактора росту-бета$_1$ (TGF-бета$_1$) (DRG), інтерлейкіну-1 (IL-1) (Diaclon) та TNF-альфа. (ELISA) у крові вивчали за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА). Ступінь компенсації вуглеводного обміну та ІР встановлювали за рівнем глікемії натще, постпрандіальної глікемії, рівнем інсуліну та С-пептиду у крові натще та після навантаження глюкозою (DRG System) (ІФА), індексом ІР HOMA-IR (S. Matthews et al., 1985) [8]. Наявність ендотеліальної дисфункції оцінювали шляхом ІФА за вмістом у крові монооксиду нітрогену (NO) (з реактивом Гріса) та ендотеліну-1 (ET-1) (Peninsula). Ліпідний спектр крові вивчали за вмістом в крові загального холестеролу, тригліцеролів, холестеролу ліпопротеїнів низької (ЛПНЩ) та високої щільності (ЛПВЩ) за допомогою наборів фірми „Simko Ltd» (м. Львів). З метою оцінки гормональної регуляції ліпідного обміну вивчали вміст у крові лептину (DRG) за допомогою ІФА. Зміни метаболізму компонентів позаклітинного матриксу вивчали за вмістом у крові вільного (ВОП) за С. С. Тетянець (1985) та білковозв'язаного оксипроліну (БЗОП) за М. С. Осадчуком (1979), гексозамінів (ГА) за О. Г. Архіповою (1988), серомукоїдів (СМ), сіалових кислот (СК), фукози, не зв'язаної з білком, за допомогою наборів фірми „Simko Ltd» (м. Львів). Статистичну обробку результатів проводили за допомогою параметричних та непараметричних методів варіаційної статистики, а також кореляційного аналізу з використанням критерію „Z» Фішера.

Обговорення результатів дослідження

Аналіз результатів дослідження цитокінового профілю крові показав, що в обох групах хворих встановлено вірогідне підвищення вмісту в крові прозапальних цитокінів: TNF-альфа, TGF-бета$_1$ та IL-1. Зокрема, вміст TGF-бета$_1$ у хворих 1-ї групи перевищував показники в ПЗО у 5,7 раза ($p<0,05$), хворих 2-ї групи – в 5,9 раза ($p<0,05$) із відсутністю вірогідної міжгрупової різниці ($p>0,05$). Вміст у крові TNF-альфа у хворих 1-ї групи перевищував показник у контрольній групі в 3,5 раза ($p<0,05$), у хворих 2-ї групи – в 4,8 раза ($p<0,05$) із відсутністю вірогідної міжгрупової різниці ($p>0,05$). Останній факт свідчить про наявність спільних патогенетичних механізмів розвитку та прогресування НАСГ при ЦД типу 2 та ожирінні. Вміст у крові IL-1 у хворих на ожиріння перевищував показник у групі ПЗО в 4,3 раза ($p<0,05$), у хворих на ЦД – у 7,2 раза ($p<0,05$) із наявністю вірогідної міжгрупової різниці ($p<0,05$).

Встановлений значний ступінь цитокінового дисбалансу в щільній взаємозалежності корелює з основними біохімічними маркерами фіброзоутворення у хворих на НАСГ. Зокрема, встановлено прямий кореляційний зв'язок між вмістом у крові TNF-альфа, TGF-бета$_1$ та вмістом БЗОП (відповідно $r=0,721$ ($p<0,05$); $r=0,734$ ($p<0,05$)), який свідчить про високу активність процесів анаболізму колагену в цього контингенту хворих; між показниками вмісту в крові TNF-альфа, TGF-бета$_1$ та рівнем гексозамінів ($r=0,691$ ($p<0,05$); $r=0,724$ ($p<0,05$)); вмістом IL-1 та вмістом сіалових кислот ($r=0,742$ ($p<0,05$)); показниками вмісту TGF-бета$_1$, IL-1 та вмістом фукози, не зв'язаної з білком ($r=0,751$ ($p<0,05$); $r=0,658$ ($p<0,05$) відповідно); показником активності АлАТ та вмістом в крові TNF-альфа ($r=0,689$ ($p<0,05$)).

Досліджуючи ймовірні патогенетичні механізми розвитку вказаної патології була встановлена наявність кореляційного зв'язку між вмістом регуляторних профіброгенних цитокінів, ступенем ендотеліальної дисфункції та ІР в обстежених хворих на НАСГ. Зокрема, встановлений прямий кореляційний зв'язок між вмістом інсуліну, індексом HOMA-IR та вмістом у крові TNF-альфа ($r=0,647$ ($p<0,05$); $r=0,724$ ($p<0,05$) відповідно); вмістом IL-1 ($r=0,621$ ($p<0,05$); $r=0,775$ ($p<0,05$) відповідно); вмістом TGF-бета$_1$ ($r=0,738$ ($p<0,05$); $r=0,745$ ($p<0,05$)); вмістом IL-1 та ендотеліну-1 ($r=0,711$ ($p<0,05$)), вмістом TGF-бета$_1$ та ендотеліну-1 ($r=0,743$ ($p<0,05$)); а також зворотний кореляційний зв'язок між показниками вмісту в крові NO та TGF-бета$_1$ ($r=-0,732$ ($p<0,05$)), вмістом у крові NO та TNF-альфа ($r=-0,654$ ($p<0,05$)).

У хворих на НАСГ, що розвинувся на тлі метаболічного синдрому, детермінантами розвитку фіброзу печінки на сьогоднішній день можна вважати обидві його складові: стеатоз та запалення печінкової тканини [2, 9]. Факторами, які сприяють розвитку фіброгенезу в цьому випадку є синдром ІР із феноменом глюкозотоксичності, глікозилювання структурних та транспортних (гемоглобіну) білків [4, 10], ЛПВЩ, які у зв'язку з цим стають функціонально неповноцінними [9], а також глікозилювання колагену, який відразу набуває властиво-

стей „зрілого» і не підлягає процесам резорбції [10]; оксидативний стрес, медійований системою цитохромів Cyp2E1/Cyp 4A, ПОЛ мембран та ЛПНЩ, які набувають властивостей цитотоксичності і активно депонуються у гепатоцитах та субендотеліально у макрофагах, сприяючи інтенсифікації процесів апоптозу гепатоцитів, вивільненню факторів клітинної адгезії, лізосомальних гідролаз, розвитку місцевого ацидозу, які є потужними факторами активації ПЗК [7]; прогресуюча поліморфноклітинна інфільтрація печінкової тканини з вивільненням профіброгенних цитокінів та різноманітних медіаторів запалення (TNF-альфа, TGF-бета, хемокіни, інтерлейкіни- 1, 6, 8, фактор росту ендотелію судин, тромбоцитарний фактор росту, фактор росту сполучної тканини та фібробластів тощо) [3, 5]; експресія та активація рецептора-проліфератора пероксисом-гама та -альфа (PPAR-гама та -альфа) під впливом TNF-альфа [8]; дисрегуляція експресії та рецепції лептину [9]. Із збільшенням маси вісцеральної жирової тканини зростає секреція вільних жирних кислот, TNF-альфа, інтерлейкінів-1, 6, 8, лептину та інших факторів, що знижують чутливість тканин до інсуліну і сприяють ендотеліальній дисфункції [10]. Так, нами встановлено істотне збільшення вмісту лептину в крові (у хворих 1-ї групи у 3,9 раза ($p<0,05$), у хворих 2-ї групи – у 3,5 раза ($p<0,05$) порівнянно з ПЗО), що корелює у щільному взаємозв'язку з індексом маси тіла, ступенем інсулінорезистентності (HOMA IR), ступенем стеатозу та фіброзу печінки (за даними морфологічного дослідження біоптатів). Нами встановлено наявність прямого кореляційного зв'язку між вмістом лептину в крові та вмістом TNF-альфа ($r=0,687$ ($p<0,05$)), вмістом TGF-бета$_1$ ($r=0,834$ ($p<0,05$); вмістом тригліцеролів та TGF-бета$_1$ ($r=0,632$ ($p<0,05$)); вмістом у крові холестеролу ЛПНЩ та IL-1 ($r=0,654$ ($p<0,05$)), TGF-бета$_1$ ($r=0,834$ ($p<0,05$)). Гормон жирової тканини лептин – продукт локуса гена „тучності», синтезується також і у ПЗК. Фіброгенний ефект лептину при НАСГ реалізується завдяки наступним механізмам: ПЗК синтезують лептин, і синтез його зростає прямо пропорційно клітинній активації, забезпечуючи місцеве джерело цього гормону в печінці; лептин активує ПЗК автокринно, а також шляхом непрямої стимуляції синтезу TGF-бета$_1$ у синусоїдальному ендотелії [9]. До переліку інших ідентифікованих мітогенів ПЗК також належить ЕТ-1 [4]. Ендотеліальна дисфункція з надлишком вмісту ЕТ-1 та дефіцитом синтезу NO, характерна для синдрому IP, сприяє збільшенню експресії молекул клітинної адгезії на поверхні ендотеліальних клітин та прогресуванню запальних змін, а відносна недостатність синтезу NO на тлі „капіляризації» синусоїдів та дифузного фіброзоутворення – прогресуванню ішемії печінки та портальної гіпертензії [8]. Розвитку дисфункції ендотелію, у свою чергу, сприяють екзо- та ендотоксини, вільні жирні кислоти, цитокіни (TNF-альфа, IL-1, TGF-бета$_1$) та прооксидантні молекули (окиснені ЛПНЩ). Вони активують рецептори кіназ і зумовлюють синтез ендотелієм активних форм кисню – центральних компонентів запалення, що сприяють розвитку НАСГ при ожирінні та діабеті [3].

Висновки

Основу прогресування неалкогольного стеатогепатиту у хворих на цукровий діабет 2 типу та ожиріння становить цитокіновий дисбаланс. У хворих на неалкогольний стеатогепатит із синдромом інсулінорезистентності встановлено гіперпродукцію прозапальних цитокінів, яка щільно корелює із ступенем ендотеліальної дисфункції, відносної інсулінової недостатності, інтенсивністю фіброзувальних реакцій, гіпертригліцеролемії та гіперхолестеролемії ЛПНЩ, збільшенням вмісту в крові лептину.

Перспективи подальших досліджень

Перспективи подальших наукових досліджень у цьому напрямку є наукове обгрунтування та розробка способів лікування та профілактики прогресування НАСГ у хворих на ЦД типу 2 та ожиріння.

Література. 1. *Буеверов А. О., Маевская М. В.* Некоторые патогенетические и клинические вопросы неалкогольного стеатогепатита // Клин. перспективы гастроэнт., гепатологии.- 2003.- № 3.- С.2-7. 2. *Маммаев С. Н., Лукина Е. А., Шульпекова Ю. О.* Регуляция воспаления и фиброза печени цитокинами при ее хронических поражениях // Клин. лаб. диагност.- 2001.- № 12.- С.37-39. 3. *Пасиешвили Л. М., Моргулис М. В.* Состояние и роль цитокинового звена иммунитета в становлении и прогрессировании заболеваний пищеварительного тракта // Сучасна гастроент.- 2004.- № 3 (17).- С.8-11. 4. *Перова Н. В., Метельская В. А.* Решенные и нерешенные вопросы патогенеза метаболического синдрома // Гепатология.- 2003.- № 6.- С.26-32. 5. *Хворостінка В. М., Моїсеєнко Т. А.* Патогенетичні аспекти уражень печінки у хворих на цукровий діабет // Врач. практика.- 2002.- № 3.- С. 61-65. 6. *Циммерман Я. С.* Хронический алкогольный и неалкогольный стеатогепатиты // Клин. мед.- 2004.- № 7.- С.9-15. 7. *Cassiman D., Libbrecht L., Desmet V.* Hepatic stellate cell/myofibroblast subpopulations in fibrotic human and rat livers // J. Hepatol.- 2002.- Vol. 36, № 1.- P. 200-209. 8. *Diehl A. M.* Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis IV. Nonalcoholic fatty liver disease abnormalities in macrophage function and cytokines // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.- 2002.- Vol. 282, № 1.- P. G1-G5. 9. *Festi D., Colecchia A., Sacco T.* Hepatic

steatosis in obese patients: clinical aspects and prognostic significance // Obes. Rev.- 2004.- Vol. 5, № 1.- P.27-42.
10. *Fernбndez-Real J. M., Broch M., Vendrell J.* Insulin resistance, inflammation, and serum fatty acid composition // Diabetes Care.- 2003.- Vol. 26, № 5.- P.1362-1368.
11. *Paradis V., Dargere D., Bonvoust F.* Effects and regulation of connective tissue growth factor on hepatic stellate cells // Lab. Invest.- 2002.- Vol. 82, № 3.- P. 767-774.

ЦИТОКИНОВЫЕ АСПЕКТЫ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

О. С. Хухлина

Резюме. В статье изложены результаты исследования возможной роли провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухолей-альфа, интерлейкина-1, трансформирующего фактора роста-бета$_1$ в механизмах развития и прогрессирования неалкогольного стеатогепатита на фоне синдрома инсулинорезистентности. Повышение содержания в крови больных неалкогольным стеатогепатититом профиброгенных цитокинов в тесной взаимозависимости коррелирует с активностью цитолитического синдрома, интенсивностью фиброзирования печени, степенью инсулинорезистентности, гиперлипидемии, содержанием в крови лептина, показателями эндотелиальной дисфункции.

Ключевые слова: неалкогольный стеатогепатит, сахарный диабет, ожирение, инсулинорезистентность, цитокины, липиды крови, функции эндотелия.

CYTOKINE ASPECTS OF THE NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS PROGRESSION IN PATIENTS WITH THE INSULIN RESISTANCE SYNDROME

O. S. Khukhlina

Abstract. The results of the research of possible role of proinflammatory cytokines: tumor necrosis factor-alfa, interleikin-1 and growth transforming factor-beta$_1$ in the mechanisms of the development and progression of non-alcoholic steatohepatitis on a background of the insulin resistance syndrome, are expounded in the article. Increase of the blood maintenance of fibration cytokines in patients with nonalcoholic steatohepatitis in the close interdependence correlates with the activity of cytolytic syndrome, intensity of liver fibrosis, degree of insulin resistance, hyperlipidemia, blood maintenance of leptin, indexes of the endothelial disfunction.

Key words: nonalcoholic steatohepatitis, diabetes mellitus, obesity, insulin resistance, cytokines, blood lipids, functions of endothelium.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol.– 2004.– Vol.3, №4.– P.83–86.

Надійшла до редакції 22.11.2004