

Концентрация интерлейкина-6 в сыворотке крови у больных циррозом печени

П.К. Холматов*, Д.С. Додхоев, М.А. Хидиров

* Кафедра хирургических болезней №1; ЦНИЛ ТГМУ им. Абуали ибни Сино

Цель данного исследования – изучение концентрации интерлейкина-6 (IL-6) в плазме у больных циррозом печени при различных стадиях заболевания. Стадии заболевания подразделялись согласно классификации Чайлда-Пью на классы А, В и С, в соответствии с чем и были сформированы подгруппы основной группы. Первая подгруппа (класс А) состояла из 23 пациентов, вторая (класс В) – из 22 и третья (класс С) – из 20 больных. В качестве контрольной группы были взяты 15 условно здоровых человек без патологии печени. Содержание IL-6 изучали методом ИФА. Результаты исследования показали, что в зависимости от стадии заболевания средние значения концентрации IL-6 менялись значительно: 4,34 пк/мл, 6,00 пк/мл и 3,79 пк/мл, соответственно подгруппам ($p=0,0000$). Разнонаправленные изменения концентрации IL-6 в плазме крови свидетельствовали о различных по времени развития реакциях гомеостаза на местном и системном уровнях при циррозе печени.

Ключевые слова: цирроз печени, интерлейкин-6 (IL-6), классификация Чайлда-Пью (Child-Pugh)

Актуальность. В настоящее время в экономически развитых странах цирроз печени (ЦП) входит в число шести основных причин смерти у лиц в возрасте 35–65 лет [1]. Несмотря на совершенствование методов диагностики и лечения заболеваний печени, количество больных ЦП не уменьшается [2,3]. Ежегодная смертность от ЦП и его осложнений растёт, составляя, в среднем, около 300 тыс. человек. Одной из причин смерти больных ЦП являются осложнения, связанные с портальной гипертензией. Наиболее частыми (более 80%) причинами развития ЦП являются вирусная инфекция и хроническая интоксикация алкоголем. Характерно то, что в настоящее время нередко случаи выявления ЦП у лиц молодого возраста [2,4–7].

Повреждение печени при вирусном гепатите и циррозе сопровождается явлениями дисфункции со стороны иммунной системы и приводит к развитию вторичного иммунодефицита, формированию иммунноклеточных и иммуннокомплексных реакций [8–10]. Существенным моментом в возникновении иммуннопатологических реакций, и связанных с этим особенностей патогенеза цирроза печени, является нарушение продукции цитокинов, принимающих непосредственное участие в развитии воспаления, иммунного ответа и регенерации печени. Активация клеток, усиление продукции провоспалительных цитокинов (хемокинов, интерлейкина-1, интерлейкина-6, туморнекротического фактора- α и др.) являются необходимой реакцией в начальных фазах воспаления, однако всё это может стать проблемой,

если степень активности перестаёт быть интенсивной, когда первоначально защитный механизм перерастает в патологический [11–13].

Цель исследования: изучить концентрацию провоспалительного цитокина – интерлейкина-6 (IL-6) в сыворотке крови у больных с различными стадиями течения цирроза печени.

Материал и методы. Клиническая оценка и отбор пациентов проводились на базе отделения хирургии ГКБ СМП г. Душанбе в течение 2012–2013 гг., лабораторные исследования – в ЦНИЛ ТГМУ им. Абуали ибни Сино. Концентрацию интерлейкина-6 (IL-6) изучали у 65 пациентов с циррозом печени – основная группа. Цирроз печени у данного контингента больных являлся последствием перенесённых гепатитов В и С. Возраст больных основной группы варьировал от 23 до 54 лет.

В качестве контрольной группы были взяты 15 условно здоровых человек, без какой-либо печёночной патологии и без острых воспалительных процессов в организме. Их возраст составлял 26–48 лет.

Основная группа была разделена на 3 подгруппы согласно классам по классификации Чайлда-Пью (Child-Pugh). В I подгруппе (класс А) было 23 пациента, во II (класс В) – 22 и в III (класс С) – 20. Классы по классификации Чайлда-Пью соответствуют компенсированной, субкомпенсированной и декомпенсированной стадиям течения цирроза печени.

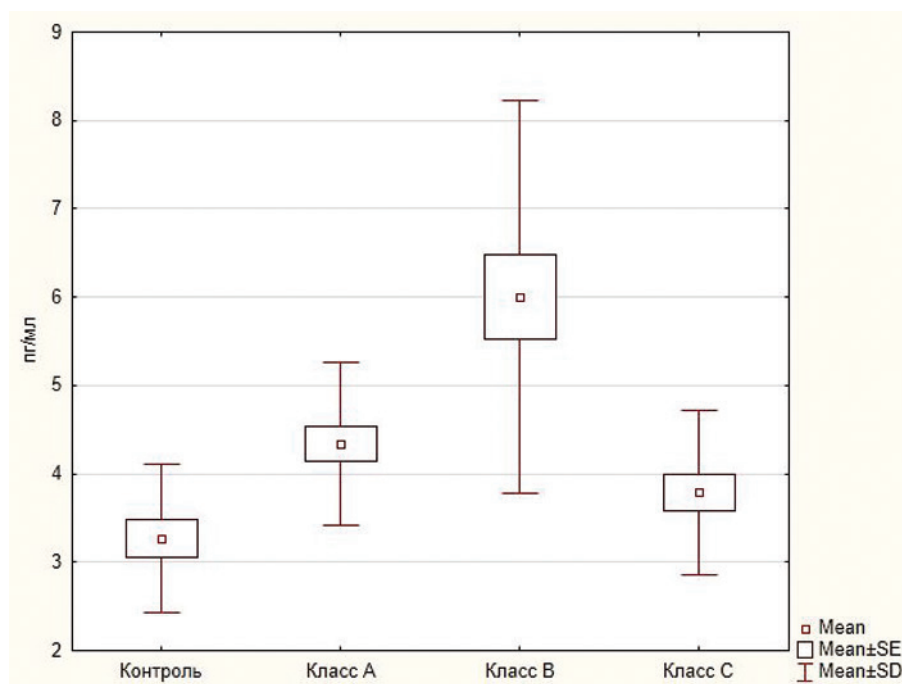


РИС. 1. СРЕДНИЕ ЗНАЧЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ IL-6 В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ И УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

Исследование интерлейкина-6 проводили на иммуноферментном анализаторе «BioTek EL-800» (BioTek Instruments, США) с помощью набора антител, специфичных к IL-6 – «Иммуноферментный набор для количественного определения растворимого IL-6» (Bender MedSystem, Австрия) по методике, изложенной в инструкции к набору. Кровь для исследования брали в количестве 5 мл на цитрат, центрифугировали при 3000 об./мин. и отбирали плазму, которую замораживали в пробирках Eppendorf при -20°C . Для постановки реакции с наборами необходимо было по 50 мкл образцов плазмы.

Статистическую обработку материала проводили методами описательной статистики с выявлением средних тенденций выборок M (среднее значение) и Me (медиана), стандартного отклонения σ и стандартной ошибки m , первого и третьего квартилей Q_{25} и Q_{75} . Значимость различий средних тенденций для парных сравнений определяли по U -критерию Манна-Уитни (Mann-Whitney), а для сравнения значений нескольких групп применяли H -тест Крускала-Уоллиса (Kruskal-Wallis ANOVA) и χ^2 (Median test). Нулевая гипотеза схожести отвергалась при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследования показали, что среднее значение концентрации IL-6 в плазме крови условно здоровых людей составляло $3,27 \pm 0,22$ пг/мл. В тоже время у пациентов I подгруппы – $4,34 \pm 0,19$ пг/мл, II – $6,00 \pm 0,47$ пг/мл и III – $3,79 \pm 0,21$ пг/мл. Сравнительный анализ средних значений методом Крускала-Уоллиса (ANOVA) показал значительные изменения – $p = 0,0000$ (рис. 1).

Из рисунка 1 видно, что у пациентов II подгруппы разброс в пределах $M \pm \sigma$ (68,2% всех случаев) в 2 раза превосходил подобные значения в контрольной группе и у пациентов I и III подгрупп. В виду того, что дисперсия данных в различных группах была не однородной и не отвечала требованиям нормального распределения, а также состав групп был невелик и неодинаков, было решено средние тенденции представить в виде медианы и 1-3 квартиля – Me (Q_{25} - Q_{75}).

Так, в контрольной группе значения концентрации IL-6 в плазме крови соответствовали 3,10 (2,65-3,85) пг/мл, у пациентов I подгруппы – 4,28 (3,69-5,12) пг/мл, у II подгруппы – 5,53 (4,30-8,06) пг/мл и у III подгруппы – 3,72 (3,05-4,14) пг/мл. Сравнительный анализ медиан методом χ^2 также показал значительные изменения – $p = 0,0001$ (рис. 2).

Из рисунка 2 видно, что во всех группах 50% исследований, находящихся выше медианы, имели тенденцию к большему разбросу. Тем не менее, общая тенденция изменения концентрации IL-6 сохранилась, т.е. у пациентов с циррозом печени класса А концентрация IL-6 в плазме была значимо выше, чем в плазме условно здоровых людей ($p = 0,001$ по U -тесту Манна-Уитни). В тоже время концентрация IL-6 у пациентов с циррозом печени класса В значительно превышала значения у пациентов с циррозом печени класса А ($p = 0,008$ по U -тесту Манна-Уитни). Необходимо сказать, что именно у пациентов с циррозом печени класса В выявлялась максимальная концентрация IL-6 в плазме крови, что указывало на

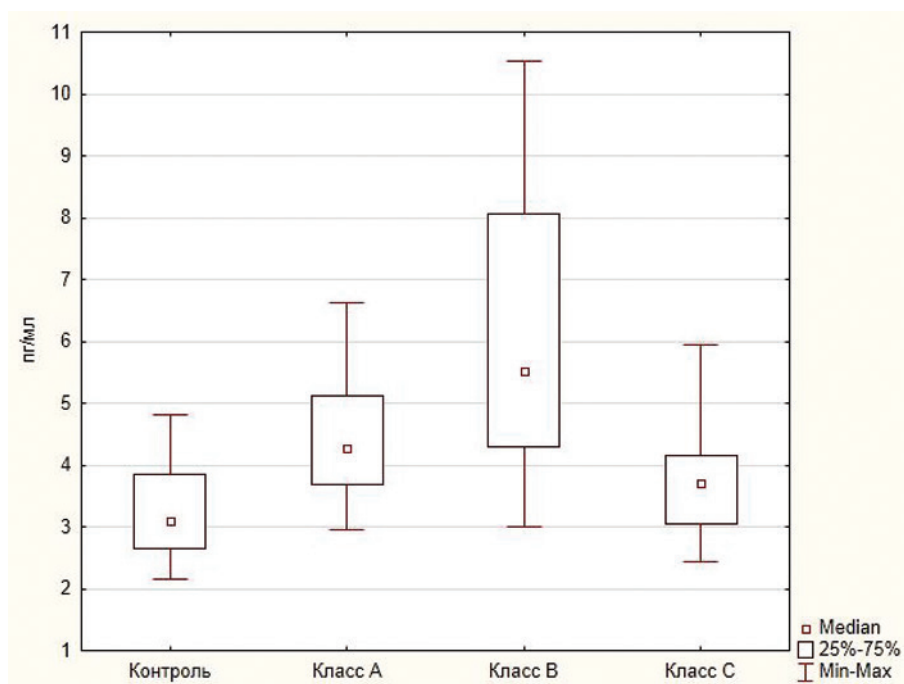


РИС. 2. ЗНАЧЕНИЯ МЕ (Q₂₅-Q₇₅) (MIN-MAX) КОНЦЕНТРАЦИИ IL-6 В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ И УСЛОВНО ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

обострение воспалительных процессов в организме при субкомпенсированном течении цирроза, которое способствовало синтезу острофазных белков гепатоцитами. Однако хотя значение концентрации IL-6 при субкомпенсированном течении значительно выше, чем у условно здоровых людей, но данной концентрации было не достаточно, чтобы вызвать полноценный иммунный ответ.

У пациентов с циррозом печени класса С наблюдалось значительное снижение концентрации IL-6 в плазме крови по сравнению с таковыми значениями у пациентов с циррозом печени класса А ($p=0,00008$ по U-тесту Манна-Уитни), при этом его концентрация не отличалась от таковой у условно здоровых лиц ($p=0,08$ по U-тесту Манна-Уитни). Вероятно, снижение концентрации IL-6 у пациентов III подгруппы было связано с истощением иммунного ответа при декомпенсированной (терминальной) стадии цирроза печени.

В доступной литературе описаны исследования интерлейкина-6 при циррозах печени [10]. Однако эти данные противоречивы. Во-первых, многие авторы изучали концентрацию IL-6 при циррозах печени в противопоставлении с гепатоцеллюлярным раком, поэтому не учитывали стадии цирроза печени [12]. А как показали наши исследования, в разные стадии заболевания имеются различные концентрации IL-6. Во-вторых, в некоторых исследованиях динамика изменения концентрации IL-6 пропорционально увеличивается с динамикой стадий заболевания [11], что не нашло подтверждения в наших исследова-

ниях. Более того, полученные данные согласуются с клиническим проявлением основного заболевания.

Известно, что IL-6, вырабатываемый нейтрофилами и макрофагами, способствует адгезии и фагоцитозу, в то же время IL-6, вырабатываемый лимфоцитами – пролиферации и дифференцировке В- и Т-клеток [11]. Кроме того, велика роль IL-6 в индукции образования С-реактивного белка печенью [8]. И, естественно, неполноценный иммунный ответ ведёт к хроническому поступательному течению заболевания, когда постепенно в процесс перерождения вовлекаются все гепатоциты.

В итоге, если в ходе развития нормальной защитной реакции на внедрение вируса продукция IL-6 необходима и направлена на активацию и регуляцию воспалительного процесса, то при циррозе эта ситуация иная. Разнонаправленные изменения концентрации в плазме крови IL-6 свидетельствуют о различных по времени развития реакциях гомеостаза на местном и системном уровнях. Во всех случаях при различных стадиях заболевания реакция недостаточная, а при стадии, соответствующей классу С, можно констатировать снижение синтеза IL-6 до концентраций нормы, хотя при этом клинически пациент находится в терминальной стадии заболевания. Поэтому, вероятно, при циррозе печени необходима иммунокорректирующая терапия с учётом возможности активации IL-6.



ЛИТЕРАТУРА

1. Особенности развития и течения осложнений портальной гипертензии у больных циррозом печени HBV и HCV-этиологии / Ф.Т.Назыров [и др.] // Вестник хирургии. - 2011. - Т. 170, №1. - С. 22-29
2. Ерамишанцев А.К. «Сегодня и завтра» хирургии портальной гипертензии / А.К.Ерамишанцев, Г.В.Манукян // Анналы хир. гепатологии. - 1998. - Т.3, №2. - С. 111-114
3. Обуховский Б.И. Портальная гипертензионная гастропатия у больных циррозом печени (клинико-морфологическое исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук / Б.И. Обуховский. - М., 2006. - 21 с.
4. Современные принципы комплексного лечения осложнений цирроза печени / М.Ф.Зарифацкий [и др.] // Мед. наука и образование Урала. - 2008. - №3. - С.64-66
5. Особенности тактики лечения при кровотечениях из варикозно расширенных вен пищевода и желудка у больных с циррозом печени и портальной гипертензией // Р.А.Ибадов [и др.] // Сборник научных трудов XIX межд. конгр. хирургов-гепатологов России и стран СНГ. - Иркутск, 2012. - С.9-10
6. Nicoll A. Surgical risk in patients with cirrhosis / A. Nicoll // J. Gastroenterol. Hepatol. - 2012. - Vol. 27, №10. - P.1569-1575
7. Fullwood D. Portal hypertension and varices in patients with liver cirrhosis / D. Fullwood // Nurs Stand. - 2012. - Vol. 26. - P.52-57
8. Дамианов И. Секреты патологии: [пер. с англ.] / И.Дамианов - М.: ООО «Медицинское информационное агентство». - 2006. - 816 с.
9. Маев И.В. Болезни двенадцатиперстной кишки: руководство / И.В.Маев, А.А.Самсонов. - М.: Мед пресса. - 2005. - 512 с.
10. Шапиро И.Я. Особенности иммунного ответа и цитокинный статус при различных вариантах течения цирроза печени / И.Я.Шапиро, Сек Ок Сун, Б.Е.Кноринг // Мед. иммунология. - 2002. - Т. 4, №4-5. - С.545-552
11. Diehl A.M. Cytokine regulation of liver injury and repair / A.M.Diehl // Immunological Reviews. - 2000. - Vol. 174. - P.160-171
12. Tilg H. Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis / H.Tilg, A.Diehl // New Engl. J. Med. - 2000. - Vol. 343. - P.1467-1476
13. Liver cirrhosis in the medical critical care patient / G.Biancofiore [et al.] // Minerva Anesthesiology. - 2012. - Vol. 78, №6. - P.693-703

Summary

Concentration of interleukin-6 in serum of patients with liver cirrhosis

P.K. Kholmatov*, D.S. Dodkhoev, M.A. Hidirov*

Chair of surgical diseases N1; Central Scientific Research Laboratory of Avicenna TSMU

The purpose of this study was to investigate the concentration of interleukin-6 (IL-6) in plasma in patients with liver cirrhosis with different stages of disease. Stages of disease were divided according to Child-Pugh classification into classes A, B and C, in accordance that were formed subgroups of the main group. The first subgroup (Class A) consisted of 23 patients, the second (class B) - of 22 and the third (class C) - from 20 patients. For a control group was taken 15 apparently healthy individuals without liver diseases. The content of IL-6 was investigated by immuneenzyme analysis. The results of study has showed that in depended on disease stage average concentration of IL-6 was significantly changed: 4.34 pg / ml, 6.00 pg / ml, and 3.79 pg / ml, respectively subgroups ($p = 0,0000$). Multidirectional changes in concentration of IL-6 in plasma of blood have indicated to a different time of homeostasis reactions at the local and systemic levels in liver cirrhosis.

Key words: liver cirrhosis, interleukin-6 (IL-6), the Child-Pugh classification

АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Холматов Пулат Кадырович – доцент кафедры хирургических болезней №1 ТГМУ; Таджикистан, г.Душанбе, ул. Юсуф Вафо, 73, кв. 29
E-mail: science@tajmedun.tj