Вивчали крапкові нуклеотидні поліморфізми промоторної ділянки гена ІЛ-10 в групі подружніх пар з навиковим невиношуванням вагітності на ранніх термінах. Встановлено, що дана група характеризується достовірно підвищеною частотою алелі G - алелі високої експресії ІЛ-10 та генотипу високої експресії (GG-генотип). Передбачаємо, що ІЛ-10 може бути задіяний в патогенезі навикового невиношування вагітності через порушення імунного статусу жінки.

Ключові слова: навикове невиношування вагітності, клітинний імунітет, ген ІЛ-10.

Резюме

Терпыляк О.И., Заставна Д.В., Заганяч Я.Ю., Гельнер Н.В., Тыркус М.Я. *Особенности клеточного иммунитета и полиморфных вариантов SNP -1082 G⇒A промоторного участка гена ИЛ-10 при привычном невынашивании беременности.*

Изучали точечные нуклеотидные полиморфизмы промоторного участка гена ИЛ-10 в группе супружеских пар с привычным невынашиванием беременности в I триместре. Установлено, что данная группа характеризуется достоверно повышенной частотой аллеля G - аллеля высокой экспрессии ИЛ-10 и генотипа высокой экспрессии (GG-генотип). Предполагаем, что ИЛ-10 может быть задействован в патогенезе привычного невынашивания беременности через нарушение иммунного статуса у женщины.

Ключевые слова: привычное невынашивание беременности, клеточный иммунитет, ген ИЛ-10.

Summary

Terpyljak O.I., Zastavna D.V., Zahanjach J.Yu., Helner N.V., Tyrkus M.Ya. *The condition of the cellar immunity and polymorph varieties SNP - 1082 G⇒A of the gene IL-10 promotor region in women with recurrent pregnancy lost.*

We studed the SNP1082 G A of the gene IL-10 promotor region in couples with secondary infertility which was caused by first trimester recurrent pregnancy lost. As a result of studying was determined statistically significant increase of both IL-10 high expression allele frequency (G-allele) and IL-10 high expression genotype frequency (GG-genotype). We suppose that IL-10 gene may be active in pathogenesis of first trimester reccurent pregnancy lost because of immunological disfunction in women.

Key words: reccurent pregnancy lost, cellar immunity, gene IL-10.

УДК 616.34-002.43-085:582.16

ПОКАЗНИКИ КЛІТИННОЇ ЛАНКИ ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА НЕАЛКОГОЛЬНИЙ СТЕАТОГЕПАТИТ, СПОЛУЧЕНИЙ ІЗ ДИСБІОЗОМ КИШЕЧНИКА ТА ХОЛЕСТЕРОЗОМ ЖОВЧНОГО МІХУРА

В.В. Харченко

Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика (Київ)

Вступ

Останнім часом разом з вірусними ураженнями печінки предметом активного вивчення сталі хронічні гепатити неінфекційної етіології. Неалкогольний стеатогепатит (НАСГ характеризує основний тип ураження печінки в осіб, які не зловживають алкоголем [5]. Ця патологія на сьогодні вважається самостійним захворюванням, яке характеризується поєднанням жирової дистрофії печінкових клітин і хронічного гепатиту, тобто запального та, можливо, некротичного процесу у паренхімі печінки [1]. Частіше НАСГ перебігає відносно доброякісно, однак у деяких випадках, особливо при прогресуванні з приєднанням фіброзу печінки, у таких хворих виникає загроза розвитку цирозу [5]. Причиною "жирової хвороби" печінки можуть бути порушеннях ліпідного і вуглеводного обміну в межах метаболічного синдрому, що супроводжується одночасно патологією жовчного міхура (ЖМ) та жовчовивідних шляхів, зокрема холестерозом ЖМ (ХЖМ) [13]. ХЖМ - це патологія, яка в першу чергу пов'язана з порушенням ліпідного метаболізму в печінці, що приводить до абсорбції і накопичення в стінці ЖМ ліпідів з жовчі і супроводжується зміною його функції [11, 16]. Відомо, що НАСГ та ХЖМ нерідко супроводжується значними розладами з боку кишкової мікрофлори та формуванням дисбіозу кишечника (ДбК) [9, 10]. Вивчення основних патогенетичних ланок розвитку сполученої патології гепатобіліарної системи (ГБС) та ДбК можна вважа-

ти доцільним з метою подальшої розробки та удосконалення існуючих методів лікування і медичної реабілітації. Відомо, що в патогенезі уражень печінки та жовчного міхура, особливо при сполученні з ДбК, суттєва роль належить зсувам імунної системи. Тому вивчення стану клітинної ланки імунітету у хворих на НАСГ, сполучений з ДбК та ХЖМ, можна вважати перспективним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, темами: робота виконувалася відповідно з основним планом науково-дослідних робіт (НДР) Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика (м. Київ) та являє собою фрагмент теми НДР "Ефективність імуноактивних препаратів у хворих хронічною патологією гепатобіліарної системи невірусного генезу на тлі дисбіозу кишечника" (№ держреєстрації 0104U006766).

Метою роботи було вивчення характеру порушень з боку клітинної ланки імунітету у хворих на НАСГ, сполучений з ДбК та ХЖМ, та динаміки імунних показників під впливом загальноприйнятого лікування.

Матеріали та методи дослідження

Під спостереженням знаходилось 48 хвори, віком від 35 до 56 років, жінок було 26, чоловіків 22. Діагноз НАСГ та ХЖМ встановлювався за даними клініко-лабораторного та сонографічного дослідження. У всіх хворих було діагностовано ДбК, переважно II ступеню, у відповідності з існуючими клініколабораторними критеріями [12, 14]. При цьому до обстеження не включали пацієнтів, які зловживали алкогольними напоями, а також осіб, в яких при проведенні обстеження методом ІФА були виявлені маркери вірусних гепатитів В або С. Комплексне мікробіологічне дослідження фекалій проводилось з наступним визначенням мікробіологічного статусу не тільки вмісту порожнини товстої кишки, але й мікрофлори, яка формує колонізаційну резистентність слизової оболонки товстої кишки [4]. При їх співвідношенні розраховували частоту життєздатних клітин в одному грамі вмісту товстої кишки, загальне число анаеробних бактерій (біфідобоктерій, лактобактерій,

бактероїдів, клостридій, еубактерій (пептококів, пептострептококів) і анаеробних мікроорганізмів (кишкових паличок, в тому числі і інших ентеробактерій а також гриби роду Candida та інші мікроорганізми [10].

Хворі обох отримували лікування загальноприйнятими методами, в залежності від фази патологічного процесу (загострення або нестійка ремісія). В якості гепатопротекторів отримували силібор або карсил та есенціале Н. Для корекції дисбіозу кишечнику використовували переважно біфіформ у відповідності з раніше отриманими результатами [19].

Додатково всім хворим, що знаходилися під наглядом, проводили вивчення імунологічних показників, які характеризують стан клітинної ланки імунітету. При цьому кількісна оцінка імунологічних показників у обстежених хворих здійснювалася за рівнем основних популяцій і субпопуляцій лімфоцитів у крові - Т (CD3+), В (CD22+), Т-хелперів/індукторів (CD4+) і Т-супресорів/кілерів (CD8+) у цитотоксичному тесті за методом [15] із використанням моноклональних антитіл (МКАТ). У роботі використовувалися комерційні МКАТ фірми НВЦ "МедБиоСпектр" (РФ - Москва) класів CD3, CD4, CD8, CD22. Про функціональний стан клітинної ланки імунітету судили по показнику реакції бласттрансформації лімфоцитів (РБТЛ) з фітогемаглютиніном, яку здійснювали мікрометодом [6].

Математичну обробку отриманих даних проводили на персональному комп'ютері Intel Core 2 Duo 2,66 GHz, Microsoft Windowsxp professional з використанням пакетів ліцензійних програм Microsoft Office 2003, Microsoft Excel Stadia 6.1/prof та Statistica [6].

Отримані результати та їх обговорення

До початку проведення лікування хворі на НАСГ, поєднаний з ДбК та ХЖМ, скаржилися на загальну слабкість, нездужання, зниження працездатності, поганий апетит, негативний емоційний настрій, підвищену стомлюваність, тяжкість або больові відчуття у правому підреберї, нерідко також гіркоту у роті. При об'єктивному обстеженні у більшості обстежених відмічалася наявність субіктеричності склер, нерідко також

їхньої блакитності (позитивний симптом Високовича). Печінка в обстежених хворих виступала на 2 - 4 см з-під реберного краю, була підвищеної щільності, край тупий, чутливий при пальпації. Поряд із цим нерідко відмічалися порушення стільця у вигляді закрепів, які чергувалися з проносами, метеоризм. Була характерна також чутливість або наявність болю при пальпації товстої кишки.

При проведенні імунологічного обстеження до початку лікування були виявлені зсуви з боку показників клітинної ланки імунітету, які характеризувалися Т-лімфопенією, зниженням кількості циркулюючих у крові Т-хелперів/індукторів (CD4+) та дисбалансом субпопуляційного складу Т-клітин зі зменшенням імунорегуляторного індексу CD4/CD8 відносно норми, що свідчить про формування у хворих відносного супресорного варіанту імунодефіциту (з переважним зменшенням кількості клітин з хелперною активністю). Відносна та абсолютна кількість лімфоцитів з фенотипом CD8+ вірогідно не відрізнялась від показників норми (табл. 1).

Таблиця

Показники клітинної ланки імунітету у хворих на НАСГ, сполучений з ДбК та ХЖМ, в динаміці лікування (M±m)

Імунологічні показники		Норма	До початку лікування	Після завершення лікування
CD3+,	%	69,5±2,2	51,5±1,6**	56,6±2,2*
	Г/л	1,32±0,04	0,97±0,02***	1,06±0,03*
CD4+,	%	45,5±1,5	32,0±1,7**	36,8±1,8*
	Г/л	0,86±0,03	0,60±0,03***	0,69±0,03*
CD8+,	%	23,4±1,0	20,5±1,1	21,2±1,0
	Г/л	0,44±0,02	0,38±0,02	0,4±0,02
CD4/CD8		1,94±0,02	1,56±0,02***	1,74±0,02*
CD22+,	%	21,5±1,1	20,3±1,3	20,6±1,3
	Г/л	0,41±0,02	0,38±0,02	0,39±0,02
РБТЛ з ФГА, %		69,6±2,4	40,3±2,8**	52,4±2,7*

Примітки: ймовірність різниці відносно норми * - при P<0,05, ** - P<0,01, *** - P<0,001.

Тому імунорегуляторний індекс CD4/CD8 у обстежених хворих на НАСГ, сполучений із ДбК та ХЖМ, був вірогідно нижче за норму (P<0,001). Кількість В-клітин (CD22+) в більшості випадків суттєво не змінювалася у пацієнтів з НАСГ, сполученим із ДбК та ХЖМ. У той же час функціональна активність Т-лімфоцитів у обстежених пацієнтів з коморбідною патологією за даними РБТЛ з ФГА була суттєво знижена: цей показник був нижче норми в середньому в 1,73 рази (P<0,01).

Таким чином, до початку проведення лікування в обстежених хворих на НАСГ, сполучений з ДбК та ХЖМ, мали місце суттєві порушення з боку клітинної ланки імунітету, що полягали у наявності Т-лімфопенії, дисбалансу субпопуляційного складу Т-лімфоцитів з переважним зменшенням кількості Т-хелперів/індукторів (CD4+), циркулюючих у периферійній крові, та зниженням імунорегуляторного індексу CD4/CD8. У той же час відмічено суттєве зменшення функціональної активності Т-лімфоцитів за даними РБТЛ з ФГА.

При повторному вивченні показників клітинної ланки імунітету після завершення курсу загальноприйнятого лікування була відмічена позитивна динаміка вивчених показників, однак вони залишались вірогідно відмінними від норми. Так, абсолютна кількість CD3+-клітин піжвищилася відносно початкового значення в середньому в 1,1 рази, або була в 1,25 рази менше норми (P<0,05). Відсоток лімфоцитів з фенотипом CD3+ збільшився в середньому в 1,1 рази, але це було в 1,23 рази менше норми (P<0,05). Аналогічно і абсолютна кількість CD4+-лімфоцитів підвищилась відносно вихідного значення в середньому в 1,15 рази, що було менше норми в 1,24 (P<0,05). Вміст CD8+ та CD22+ лімфоцитів знаходився в межах норми. Імунорегуляторний індекс CD4/ підвищився відносно початкового показника в середньому в 1,2 рази, але залишався нижче норми в середньому в 1,11 рази (P<0,05), показник РБТЛ з ФГА також підвищився відносно вихідного значення в середньому в 1,3 рази, що було вище норми в 1,33 рази (P<0,05).

У обстежених пацієнтів під впливом проведеного лікування

відмічалася позитивна динаміка клінічних показників, однак стійкої клініко-біохімічної ремісії досягнуто не було. У частини пацієнтів зберігалися скарги на тяжкості у правому підребер'ї, іноді гіркоту у роті, періодичні порушення стільцю.

Таким чином, використання лише загальноприйнятих методів лікування не забезпечує повноцінної клініко-біохімічної ремісії, а в патогенетичному плані залишаються порушення з боку клітинної ланки імунітету. Тому в подальшому вважаємо перспективним удосконалення методик лікування з урахуванням отриманих даних.

Висновки

1. До початку лікування у хворих на НАСГ, сполучений з ДбК та ХЖМ, мали місце загальна слабкість, нездужання, порушення сну, зниження працездатності та апетиту, поганий настрій, підвищена стомлюваність, тяжкість у правому підребер'ї, нерідко - гіркота у роті. При об'єктивному обстеженні у всіх обстежених відмічалася наявність гепатомегалії (печінка виступала на 3 - 4 см з-під реберного краю та була підвищеної щільності), субіктеричності склер.

2. При імунологічному обстеження у пацієнтів з НАСГ, сполученим із ДбК та ХЖМ, встановлено порушення з боку клітинної ланки імунітету, які характеризувалися Т-лімфопенією, дисбалансом субпопуляційного складу Т-лімфоцитів, переважно за рахунок зниження кількості циркулюючих у периферійній крові лімфоцитів з фенотипом CD4+ (Т-хелперів/індукторів) та імунорегуляторного індексу CD4/CD8, суттєвим зменшенням функціональної активності Т-клітин за даними РБТЛ з ФГА. В цілому ці дані свідчать про формування вторинного імунодефіцитного стану, переважно за відносним супресорним варіантом.

3. Використання лише загальноприйнятих методів лікування у хворих зі сполученою патологією ГБС та ДБК не забезпечує повноцінної клініко-біохімічної ремісії коморбідного захворювання: у частини пацієнтів зберігалися скарги на тяжкості у правому підребер'ї, іноді гіркоту у роті, періодичні порушення стільцю.

4. Після завершення загальноприйнятого лікування у обстежених хворих була відмічена позитивна динаміка вивчених показників клітинної ланки імунітету, однак вони залишались вірогідно відмінними від норми.

5. В подальшому вважаємо перспективним вивчити ефективність лікування хворих з НАСГ, сполученим з ДбК та ХЖМ, при застосуванні препаратів з імуноактивними властивостями.

Література

1. Буеверов А.О., Маевская М.В. Некоторые патогенетические и клинические вопросы неалкогольного стеатогепатита // Клинические перспективы в гастроэнтерологии, гепатологии. - 2003. - №3. - С. 2 - 7.

2. Воробьёв А.А., Абрамов Н.А., Бондаренко В.Ф., Шендеров Б.А. Дисбактериозы - актуальная проблема медицины // Вестник РАМН.-М.: "Медицина", 1997. - №3. - С. 4-7.

3. Дегтярева И.И.,Скрипник И.М., Сопиченко С.В. Нарушение микробиоценоза толстой кишки и метаболические аспекты его влияния на формирование патогенетических механизмов заболеваний внутренних органов // Гастроентерологія: Міжвідомственій збірник. - Дніпропетровськ, 2000. - Вип. 31. - С. 88-97.

4. Киселева Е.П., Цвейбах А.С., Гольдман Е.И., Пигарева Н.В. Использование микрометода для бласттрансформации лимфоцитов человека и животных // Иммунология. - 1985. - № 1. - С. 76 - 78.

5. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. - Киев: Морион, 2000. - 320 с.

6. Никитин И.Г., Сторожаков Г.И., Федоров И.Г. и др. Состояние кишечной микрофлоры у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. - 2002. - № 5. - С. 40-44.

7. Парфенов А.И., Калоев Ю.К., Софронова С.А., Федотова Н.Г. Дисбактериоз кишечника // Український медичний часопис. - 1998. - № 3(5). - С. 65-70.

8. Петухов В.А., Каралкин А.В. Нарушений функций печени и дисбиоз при жировом гепатозе и липидном дистресс-синдроме и их лечение препаратом дюфалак (лактулоза) // Рос.гастроэнтерол. журн. - 2001. - № 2. - С. 93-102.

9. Савельев В.С., Петухов В.А., Болдин Б.В. Холестероз желчного пузыря.- М.: Веди, 2002. - 192 с.

10. Фадеенко Г.Д., Кравченко Н.А., Виноградова С.В. Патофизиологические и молекулярные механизмы развития стеатоза и стеатогепатита // Сучасна гастроентерологія. - 2005. - № 3 (23). - С. 88 - 95.

11. Філіппов Ю.О. Основні показники гастроентерологічної захворюваності в Україні / Ю.О. Філіппов, І.Ю. Скирда, Л.М. Петречук // Гастроентерологія: Міжвід. збірник. - Дніпропетровськ, 2006. - Вип. 37. - С. 3-9.

12. Філіппов Ю.О., Мельниченко Л.Я., Ягмур С.С. та ін. Стеатоз печінки при захворюваннях жовчовивідних шляхів // Гастроентерологія.- 2005. - Вип. 36. - С. 312-318.

13. Фролов В.М., Пересадин Н.А. Моноклональные антитела в изучении показателей клеточного иммунитета у больных // Лабораторное дело.- 1989.- № 6.- С. 71-72.

14. Харченко В.В. Вплив ліволіну та біфіформу на стан системи глутатіону у хворих на хронічний безкам'яний холецистит, поєднаний з дисбіозом кишечника // Український медичний альманах. - 2007. - Т. 10, № 1. - С. 156-158.

15. Яковенко Э.П. Метаболические заболевания печени как системные проявления дисбиоза кишечника// Consilium Medicum. - 2005. - №8. - С. 33-35.

16. Brunt E.M, Tiniakos D.G. Pathological features of NASH // Front Biosci. - 2005. - Vol. 1, № 10. - P. 1475 - 1484.

17. Portincasa P., Moschetta A., Palasciano G. Cholesterol gallstone diasease // Lancet.- 2006.- Vol. 368. - P. 230-239.

Резюме

Харченко В.В. *Показники клітинної ланки імунітету у хворих на неалкогольний стеатогепатит, сполучений із дисбіозом кишечника та холестерозом жовчного міхура.*

У хворих на неалкогольний стеатогепатит, сполучений із дисбіозом кишечника та холестерозом жовчного міхура, виявлено порушення з боку клітинної ланки імунітету, які характеризувалися Т-лімфопенією, дисбалансом субпопуляційного складу Т-лімфоцитів, переважно за рахунок зниження кількості циркулюючих у периферійній крові лімфоцитів з фенотипом CD4+ (Т-хелперів/індукторів) та імунорегуляторного індексу CD4/CD8, суттєвим зменшенням функціональної активності Т-клітин. Загальноприйнята терапія у цих хворих не забезпечує повноцінного відновлення показників клітинного імунітету.

Ключові слова: неалкогольний стеатогепатит, дисбіоз кишечник, холестероз жовчного міхура, патогенез, клітинний імунітет.

Резюме

Харченко В.В. *Показатели клеточного звена иммунитета у больных с неалкогольным стеатогепатитом, сочетанным с дисбиозом кишечника и холестерозом желчного пузыря.*

У больных неалкогольным стеатогепатитом, сочетанным с дисбиозом кишечника и холестерозом желчного пузыря, выявлены нарушения со стороны клеточного звена иммунитета, которые характеризовались Т-лимфопенией, дисбалансом субпопуляционного состава Т-лимфоцитив, преимущественю за счет снижения количества циркулирующих в периферийной крови лимфоцитов с фенотипом CD4+ (Т-хелперов/индукторов) и иммунорегуляторного индекса CD4/CD8, существенным уменьшением функциональной активности Т-клеток. Общепринятая терапия у этих больных не обеспечивает полноценного восстановления показателей клеточного иммунитета.

Ключевые слова: неалкогольный стеатогепатит, дисбиоз кишечника, холестероз желчного пузыря, патогенез, клеточный иммунитет.

Summary

Harchenko V.V. *Indexes of cellular immunity at patients with nonalcoholic steatohepatitis combineted from a dysbiosis of intestine and holesterosis of gall-bladder.*

At the patients with nonalcoholic steatohepatitis combineted from a dysbiosis intestine and holesterosis of gall-bladder violations from the side of cellular immunity are revealled. They were characterized by T-limphopenia, by the disbalance of the subpopulation T-limphocitis, mainly due to the decline of amount of circulatory in a peripheral blood CD4+ (T-helper/inductor) and immunoregulatory index CD4/CD8, by substantial reduction of the functional activity T-cell. The generally accepted therapy at these patients does not provide renewal of indexes of cellular immunity.

Key words: nonalcoholic steatohepatitis, dysbiosis of intestine, holesterosis of gall-bladder, pathogenesis, cellular immunity.