

УДК: 616.36-002:616.24-008.4-07:616.15:577.17

Взаимосвязь сывороточного уровня провоспалительных цитокинов с результатами ¹³C-метацетинового дыхательного теста у больных хроническими гепатитами

И.Л. Кляритская, Е.И. Стилиди, Д. Шахбазиди

The relationship between serum proinflammatory cytokines levels and results of ¹³C-methacetin breath test in patients with chronic hepatitis

I.L. Klyarytskaya, E.I. Stilidi

Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет имени С.И. Георгиевского», Симферополь

Ключевые слова: хронические гепатиты, метацетиновый дыхательный тест, цитокины, лозартан

Актуальность темы

Повышенный интерес современные исследователи уделяют неинвазивным методам диагностики стадий фиброза, сопровождающего развитие хронических гепатитов (ХГ), что является очень важным диагностическим этапом, поскольку позволяет определять прогноз хронического заболевания печени и контролировать эффективность его лечения [7, 12].

Единая классификация неинвазивных способов диагностики фиброза печени (ФП) у больных ХГ на настоящий момент отсутствует, однако современные разработки активно ведутся и включают: (1) определение в крови больных сывороточных маркеров фиброза печени, (2) дыхательные тесты и (3) развитие методов визуализации печени.

В литературе представлено также множество комбинированных способов неинвазивной диагностики стадий фиброза печени при ХГ с использова-

нием разнообразных сочетаний инструментальных методов, прямых и непрямых сывороточных фибро-маркеров [2, 12].

Данные многих исследователей о патогенезе гепатитов и ФП свидетельствуют о том, что повреждение печени практически всегда сопровождается дисфункцией иммунной системы [8, 9], а именно нарушением регуляции выработки провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (ЦК). Также известно, что наибольшее значение в развитии заболеваний печени играют такие провоспалительные ЦК, как фактор некроза опухоли альфа (ФНО-α) и интерлейкин-6 (ИЛ-6). В клинических исследованиях показана роль данных цитокинов в патогенезе хронических вирусных гепатитов (ХВГ) [4, 8, 10], неалкогольного

¹95006, Украина, Симферополь, Крым, бульв. Ленина 5/7, e-mail office@csmu.strace.net

стеатогепатита (НАСГ) [5] и алкогольного гепатита (АГ) [6, 9].

Дыхательные тесты базируются на применении меченых субстратов, в состав которых входит изотоп углерода ^{13}C . Первым из дыхательных тестов с целью диагностики функциональной активности гепатоцитов в отечественной клинической практике начали применять ^{13}C -метацетиновый дыхательный тест (^{13}C -МДТ). Неинвазивность, безопасность, чувствительность, специфичность, отсутствие противопоказаний к проведению дыхательного теста делают его высоко востребованным.

Метацетин [N-(4-метоксифенил) ацетамид] – производное фенаcetина. По данным литературы, этот тест позволяет определить процент функционирующих гепатоцитов [3, 11, 13], что является невыполнимой задачей для других методов исследования функции печени, используемых в клинической практике. Чувствительность и специфичность ^{13}C -МДТ весьма высокая и составляет более 90% [13].

Дальнейшая разработка и внедрение ранних методов неинвазивной диагностики для оценки прогноза и эффективности лечения у больных ХГ, при ФП на ранних, латентных, стадиях его развития и разработка эффективных способов консервативной терапии, является чрезвычайно актуальной проблемой современной гепатологии.

На современном этапе необходимо дальнейшее совершенствование методов определения факторов, влияющих на течение ХГ и развитие ФП. Следует сосредоточить внимание на влиянии изменений цитокинового профиля на эффективность лечения и прогноз течения заболевания у пациентов с ХВГ, НАСГ и АГ, а также оценить взаимосвязь различных методов неинвазивной диагностики фиброза печени (сывороточные маркеры фиброза, дыхательные тесты).

Цель исследования: выявить корреляцию провоспалительных цитокинов (ФНО- α и ИЛ-6) с результатами ^{13}C -МДТ, как показателя фиброза, у пациентов с ХВГ, НАСГ и АГ.

Материал и методы

Было обследовано 147 больных ХГ, находившихся на лечении в гастроэнтерологическом отделении Крымского республиканского учреждения “Клиническая больница им. Н.А. Семашко”. Пациенты были разделены на 3 группы. Первую группу (группа ХВГ) составили 50 больных ХВГ В и С, средний возраст ($36,96 \pm 1,66$) года, 28 мужчин и 22 женщины; во вторую (группа НАСГ) вошло 49 больных НАСГ, средний возраст ($47,06 \pm 1,88$) года, 32 мужчины и 17 женщин; в третью группу (группа АГ) было включено 48 больных АГ, средний возраст ($46,25 \pm 1,95$) года, 31 мужчина и 17 женщин. Контрольную группу составили 25 практически здоровых лиц, у которых при полном клиническом и лабораторном обследовании не было обнаружено патологии печени,

средний возраст ($38,72 \pm 2,53$) года, 15 мужчин и 10 женщин.

У всех обследованных было получено согласие на участие в исследовании и на анализ их демографических и медико-биологических данных.

Клинические диагнозы ХВГ В и С, НАСГ, АГ устанавливались в соответствии с приказом МЗ Украины № 271 от 13.06.2005 г. (Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Гастроентерологія») и рекомендациями европейской ассоциации по изучению печени. При сборе анамнеза использовался опросники GAGE и AUDIT.

Всем пациентам, которые принимали участие в исследовании, проводилось общеклиническое обследование, которое включало сбор жалоб, анамнеза, физикальное обследование, комплекс общеклинических, биохимических и инструментальных методов исследований. Специальные лабораторные исследования включали в себя определение сывороточных уровней ФНО- α и ИЛ-6 методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора фирмы ЗАО “Вектор-Бест” (Россия).

Кровь для исследования брали из периферической вены локтевого сгиба в период с 8.00 до 9.00. При взятии венозной крови учитывался ряд факторов способных оказать влияние на результаты гематологического исследования:

- взятие венозной крови осуществлялось после 15-минутного отдыха обследуемого;
- пациент во время взятия крови находился в положении сидя, у тяжелых больных взятие крови осуществлялось в положении лежа;
- курение, прием алкоголя и пищи непосредственно перед исследованием исключались.

Забор венозной крови производился из локтевой вены при помощи одноразовых шприцев с внутренним диаметром иглы 0,55-0,65 мм.

Образцы крови доставлялись в лабораторию в течение не более 60 минут.

Для получения сыворотки крови использовалось следующее оборудование:

1. Центрифужные стеклянные пробирки общим объемом 10-12 мл.
2. Стеклянные палочки (для отделения сгустка).
3. Центрифуга лабораторная (3000 об/мин.).

Венозная кровь, полученная без антикоагулянтов, отстаивалась в стеклянной пробирке при комнатной температуре ($+15^{\circ}\text{C} \dots +20^{\circ}\text{C}$) в течение 30 минут до полного образования сгустка. По окончании образования, сгусток удалялся, после чего образцы крови центрифугировались при 3000 об/мин в течение 10 минут. Полученная сыворотка помещалась во вторичные пластиковые пробирки объемом 10 мл и подвергалась хранению в морозильной камере при температуре -25°C .

Чрескожная пункционная биопсия печени выполнена 46 пациентам. Активность гепатита оценивалась по критериям определения индекса гистологической активности (ИГА), предложенным

Оценка результатов ^{13}C -МДТ

Суммарная концентрация $^{13}\text{C}\text{CO}_2$ к 120-й минуте, %	Интерпретация результата
20-35	показатели функции печени в пределах нормы (МФГ-100%)
10-20	умеренное нарушение функции печени без цирротических изменений (МФГ-50–100%)
2-10	выраженное нарушение функции печени с цирротическими изменениями (МФГ 20–50%)
< 2	тяжелое нарушение функции печени с цирротическими изменениями (МФГ<20%)

Knodell (1981) и модифицированным Desmet (1995). У пациентов с НАСГ использовали критерии оценки гистологической активности, предложенные Brunt E.M.(1999, 2002). Степень ФП определяли по системе METAVIR (1996).

^{13}C -метацетиновый дыхательный тест проведен 57 пациентам. Принцип метода заключается в том, что меченный нерадиоактивным изотопом ^{13}C -метацетин (производное фенацетина) подвергается в печени ферментативному деметилированию и декарбоксилированию с участием микросомальных ферментов системы цитохрома P450. Конечным продуктом метаболизма ^{13}C -метацетина является $^{13}\text{CO}_2$, интенсивность выделения которого через легкие позволяет судить о функциональном состоянии микросомальных ферментных систем гепатоцитов.

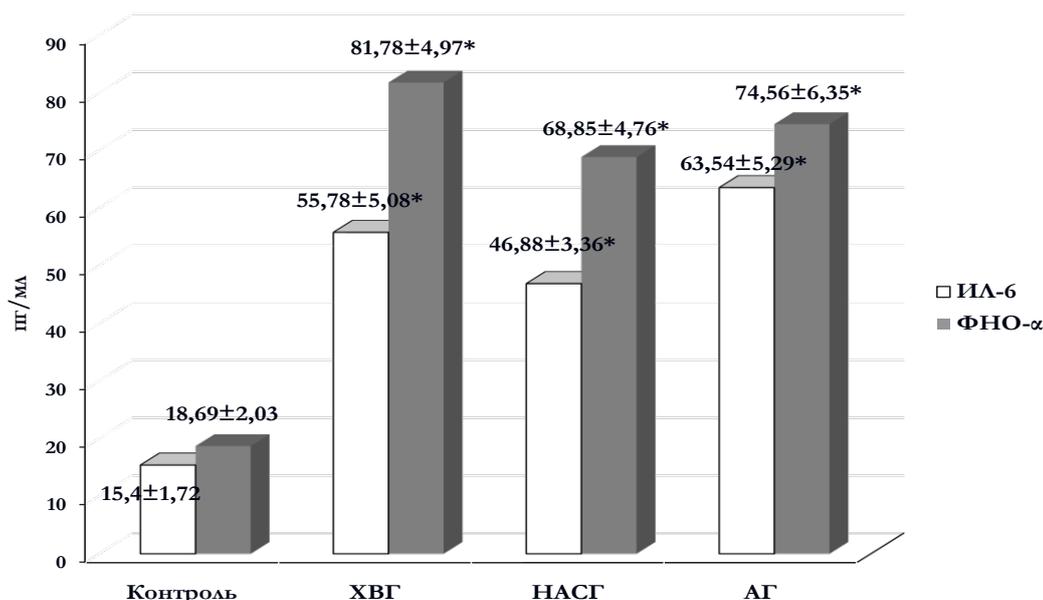
Процедура ^{13}C -МДТ:

В ходе теста необходимо получить девять дыхательных проб: исходную, до приема тестового завтрака (75 мг ^{13}C -метацетина, растворенного в 200 мл фруктового чая без сахара), а также еще шесть проб в течение первого часа (по одной каждые 10 мин.) и три – в течение второго часа (по одной каждые 20 мин.). Дыхательные пробы анализировали на инфракрасном спектрографе Iris Wagner

(Германия). Выводы о наличии или отсутствии нарушения функции печени были сделаны на основании сопоставления кривой суммарной концентрации $^{13}\text{CO}_2$ к исходу 120 минут исследования с кривыми, полученными при обследовании здоровых добровольцев, которые отражают верхнюю и нижнюю границы нормы.

В табл. 1 приведены показатели нормальной и патологической суммарной концентрации $^{13}\text{CO}_2$ и ее соотношение с массой функционирующих гепатоцитов (МФГ).

С целью изучения антифибротического действия лозартана были отобраны 96 пациентов: 33 больных ХВГ, 33 больных НАСГ, 30 больных АГ. В числе обследуемых было 59 мужчин и 37 женщин в возрасте от 18 до 77 лет; средний возраст ($43,33 \pm 1,27$) года. Больные были разделены на две подгруппы. Первая подгруппа (39 больных) получала базисную терапию: больные ХВГ – противовирусную терапию согласно общепринятым протоколам, больные НАСГ – урсодезоксихолевую кислоту в среднесуточной дозе 30 мг/кг/д и аторвастатин в дозе 20 мг/сут, больные АГ- адеметионин (“Тептрал”) в дозе 800 мг внутривенно медленно в течение 14 дней с последующим переходом на пероральный прием в дозе 1600 мг в сутки (разделенных на 2 приема).



Примечание: * вероятность различий с показателями контрольной группы, $P < 0,01$

Рис 1. Средние уровни ФНО-α и ИЛ-6 в группах ХВГ, НАСГ и АГ

Концентрация ФНО- α и ИЛ-6 в группах пациентов с нормальной и нарушенной функции печени по данным 13С-МДТ, $M \pm m$

Группа	13С-МДТ	ФНО- α , пг/мл	ИЛ-6, пг/мл
ХВГ	нормальная функция печени (МФГ=100%)	46,75 \pm 6,28	27,13 \pm 9,17
	нарушенная функция печени (МФГ менее 100%)	99,04 \pm 8,36	69,44 \pm 9,39
НАСГ	нормальная функция печени (МФГ=100%)	28,26 \pm 6,27	33,06 \pm 6,98
	нарушенная функция печени (МФГ менее 100%)	52,95 \pm 6,89	82,76 \pm 8,91
АГ	нормальная функция печени (МФГ=100%)	51,89 \pm 9,67	42,28 \pm 7,69
	нарушенная функция печени (МФГ менее 100%)	158,62 \pm 15,54	107,32 \pm 8,85

Во вторую подгруппу вошли 57 пациентов, которые получали базисную терапию (в зависимости от этиологии заболевания) и антифибротическую терапию (лозартан) в суточной дозе 50 мг ежедневно. Период контролируемого лечения вышеуказанными препаратами составил 24 недели. Эффективность лечения контролировали по динамике основных клинических синдромов и лабораторных показателей. Лабораторные показатели, включая ФНО- α и ИЛ-6, определяли в начале лечения и через 24 недели.

Все исследования проводились на сертифицированном оборудовании, прошедшем метрологический контроль, с использованием сертифицированных тест-систем и расходных материалов.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы STATISTICA 6.0 (Statsoft, Inc., www.statsoft.com). Все показатели приведены в единицах системы СИ и представлены в виде $M \pm m$. Оценка достоверности различий проводилась с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Для оценки корреляционных взаимосвязей между показателями использовался коэффициент корреляции Спирмена (r). Различия между показателями и корреляции считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Первым этапом настоящего исследования было изучение содержания ФНО- α и ИЛ-6 в сыворотке крови больных ХВГ, НАСГ, АГ. Также был проведен анализ связи провоспалительных цитокинов с результатами С13-метацетинового дыхательного теста. Среднее значение ФНО- α в группе ХВГ составило (81,78 \pm 4,97) пг/мл; в группе НАСГ – (68,85 \pm 4,76) пг/мл; в группе АГ – (74,56 \pm 6,35) пг/мл. Средний уровень ИЛ-6 в группе ХВГ – (55,78 \pm 5,08) пг/мл; в группе НАСГ – (46,88 \pm 3,36) пг/мл; в группе АГ – (63,54 \pm 5,29) пг/мл (рис.1).

Полученные данные свидетельствуют о том, что течение ХВГ В и С, НАСГ, АГ, в том числе с исходом в фиброз печени, сопровождается повышением концентрации ФНО- α , ИЛ-6 в сыворотке крови ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой).

При анализе уровня изучаемых цитокинов выявлена прямая связь между ФНО- α и ИЛ-6 у пациентов с ХВГ ($r=0,62$; $p < 0,01$), НАСГ ($r=0,86$; $p < 0,01$) и АГ ($r=0,78$; $p < 0,01$).

У пациентов ХВГ, НАСГ и АГ с ростом активности АЛТ происходило снижение кумулятивной дозы 13С02, что свидетельствует о нарушении функции печени и уменьшении процента функционирующих гепатоцитов. Кроме этого, снижение кумулятивной дозы 13С02 сопровождалось ростом концентрации ФНО- α у больных ХВГ ($r=-0,87$; $p=0,001$), НАСГ ($r =$

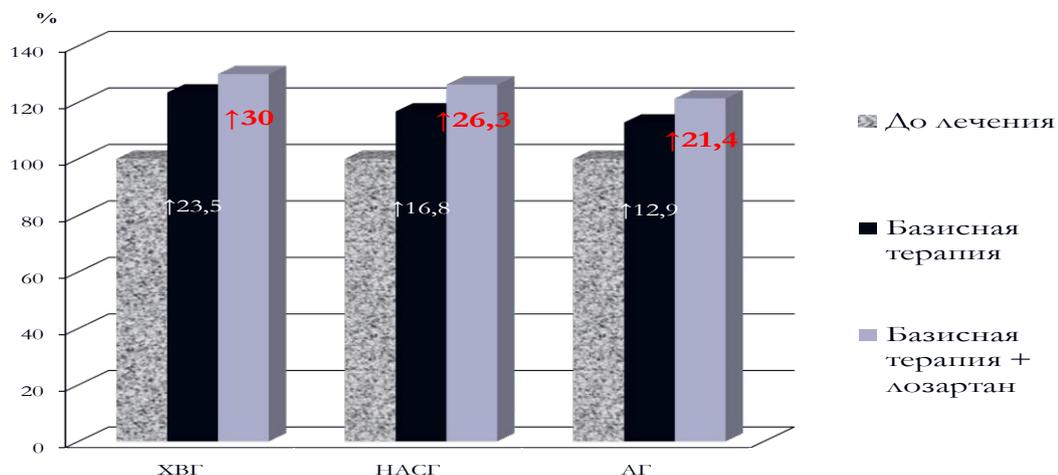


Рис 2. Показатели 13С-МДТ у больных ХВГ, НАСГ и АГ на фоне различных схем терапии (в %).

0,84; $p < 0,01$), АГ ($r = -0,72$; $p < 0,01$) и ИЛ-6 у больных ХВГ ($r = -0,65$; $p = 0,001$), НАСГ ($r = -0,74$; $p < 0,01$), АГ ($r = -0,73$; $p < 0,01$). Полученные данные позволяют сделать вывод, что уровень ФНО- α и ИЛ-6 у больных ХГ отражает степень нарушения функции печени.

У больных ХВГ с нормальной функцией печени (МФГ=100%) по результатам ^{13}C -МДТ (табл. 2) сывороточная концентрация ФНО- α и ИЛ-6 составила $(46,75 \pm 6,28)$ пг/мл и $(27,13 \pm 9,17)$ пг/мл, соответственно, превысив в 2,5 (для ФНО- α) и 1,8 (для ИЛ-6) раза показатели контрольной группы. При нарушении функции печени (МФГ менее 100%) по результатам ^{13}C -МДТ наблюдался резкий подъем сывороточной концентрации провоспалительных цитокинов. Так, уровень ФНО- α и ИЛ-6 у данных больных составил $(99,04 \pm 8,36)$ пг/мл и $(69,44 \pm 9,39)$ пг/мл, соответственно, превысив в 5,3 (для ФНО- α) и 4,5 (для ИЛ-6) раза показатели контрольной группы.

У больных НАСГ с нормальной функцией печени (МФГ=100%) по результатам ^{13}C -МДТ сывороточная концентрация ФНО- α и ИЛ-6 составила $(28,26 \pm 6,27)$ пг/мл и $(33,06 \pm 6,98)$ пг/мл, соответственно, превысив в 1,5 (для ФНО- α) и 2,1 (для ИЛ-6) раза показатели контрольной группы. При нарушении функции печени (МФГ менее 100%) по результатам ^{13}C -МДТ наблюдался резкий подъем сывороточной концентрации провоспалительных цитокинов. Так, уровень ФНО- α и ИЛ-6 у данных больных составил $(52,95 \pm 6,89)$ пг/мл и $(82,76 \pm 8,91)$ пг/мл, соответственно, превысив в 2,8 (для ФНО- α) и 5,4 (для ИЛ-6) раз показатели контрольной группы.

У больных АГ с нормальной функцией печени (МФГ=100%) по результатам ^{13}C -МДТ сывороточная концентрация ФНО- α и ИЛ-6 составила $(51,89 \pm 9,67)$ пг/мл и $(42,28 \pm 7,69)$ пг/мл, соответственно, превысив почти в 3 раза показатели контрольной группы. При нарушении функции печени (МФГ менее

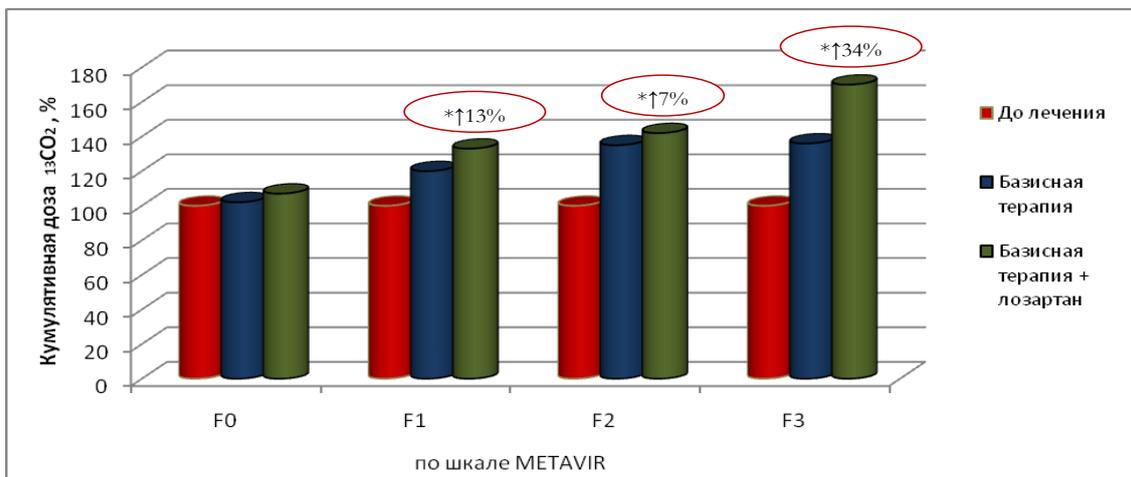
100%) по результатам ^{13}C -МДТ наблюдался резкий подъем сывороточной концентрации провоспалительных цитокинов. Так, уровень ФНО- α и ИЛ-6 у данных больных составил $(158,62 \pm 15,54)$ пг/мл и $(107,32 \pm 8,85)$ пг/мл, соответственно, превысив в 8,7 (для ФНО- α) и 7,1 (для ИЛ-6) раз показатели контрольной группы.

Таким образом, сывороточная концентрация ФНО- α и ИЛ-6 ассоциирована с количеством функционирующих гепатоцитов и степенью нарушения функции печени, о чем свидетельствуют различия в показателях изучаемых цитокинов в подгруппах пациентов с нормальной и сниженной функцией печени по результатам ^{13}C -МДТ, который является действенным, неинвазивным и динамическим количественным тестом для идентификации развития "жирной печени", цирроза печени с соответствующим ухудшением транспортной функции печени и ее метаболической емкости [1, 11]. В пользу данного утверждения свидетельствует полученная обратная корреляционная связь между изучаемыми цитокинами и суммарной концентрацией $^{13}\text{C}\text{O}_2$.

Представленные данные подтверждают высокую значимость ФНО- α и ИЛ-6 для прогнозирования течения и исхода ХВГ, НАСГ и АГ.

Вторым этапом настоящего исследования было изучение эффективности применения лозартана при хронических гепатитах различной этиологии под контролем уровня провоспалительных цитокинов и ^{13}C -МДТ.

Было установлено, что применение у пациентов ХВГ, НАСГ и АГ как базисной терапии, так и использование вместе с базисными препаратами лозартана, ведет к достоверному снижению концентрации изучаемых провоспалительных цитокинов, СРБ и улучшению показателей ^{13}C -МДТ. Однако, при использовании лозартана вышеуказанные изменения являются более значимыми. Обнаружено, что в



* - разница по сравнению с результатами, полученными после применение базисных препаратов

Рис 3. Результаты ^{13}C -МДТ у больных ХГ на фоне различных схем терапии в зависимости от стадии фиброза печени по шкале METAVIR (в %)

Литература

группе ХВГ на фоне базисной и антифибротической терапии показатель 13С-МДТ увеличился на 30%. Для сравнения, выше представленный показатель на фоне базисной терапии составил 23,5% (рис. 2).

При НАСГ базисная терапия привела к улучшению показателей ¹³С-МДТ на 16,8%, в то время как применение лозартана улучшило результаты ¹³С-МДТ на 26,3%.

В группе пациентов с АГ применение лозартана ассоциировалось с улучшением результатов ¹³С-МДТ на 21,4%, а использование базисной терапии с увеличением показателя данного теста на 12,9%.

При сравнительном анализе эффектов изучаемых схем терапии у больных с различными стадиями фиброза печени по шкале METAVIR, было обнаружено, что использование лозартана вместе с базисной терапией снижает уровень провоспалительных цитокинов на 4-20% больше, чем базисные препараты.

При всех стадиях фиброза печени лозартан повышает эффективность базисной терапии в отношении фиброгенеза. По данным 13С МДТ при F3 по шкале METAVIR масса функционирующих гепатоцитов после использования лозартана увеличилась на 34%, по сравнению с результатами, полученными после применения базисных препаратов. Для F1 и F2 по шкале METAVIR данная разница составила 13% и 7% (рис. 3).

На основе представленных данных можно сделать вывод, что у больных ХВГ, НАСГ и АГ повышается уровень ФНО-α и ИЛ-6 в ответ на прогрессирование фиброза печени, что сопровождается нарушением функции печени по данным 13С-МДТ.

Использование лозартана в комбинации с базисной терапией у данных пациентов ведет к снижению концентрации изучаемых провоспалительных цитокинов и увеличению массы функционирующих гепатоцитов.

Выводы

Сывороточная концентрация ФНО-α и ИЛ-6 ассоциирована с количеством функционирующих гепатоцитов и степенью нарушения функции печени, о чем свидетельствуют различия в показателях изучаемых цитокинов в подгруппах пациентов с нормальной и сниженной функцией печени по результатам ¹³С МДТ, а также наличие обратной корреляционной связи кумулятивной дозы 13С02 с сывороточным уровнем ФНО-α у больных ХВГ ($r = -0,87$; $p = 0,001$), НАСГ ($r = -0,84$; $p < 0,01$), АГ ($r = -0,72$; $p < 0,01$) и ИЛ-6 у больных ХВГ ($r = -0,65$; $p = 0,001$), НАСГ ($r = -0,74$; $p < 0,01$), АГ ($r = -0,73$; $p < 0,01$).

Длительное, на протяжении 6 месяцев, применение в комплексной терапии больных ХВГ С и В, НАСГ и АГ лозартана в суточной дозе 50 мг сопровождается более значительным улучшением показателей 13С-МДТ, что свидетельствует об увеличении массы функционирующих гепатоцитов.

1. Рапопорт С.И. 13С-метацетиновый дыхательный тест в практике гастроэнтеролога / С.И. Рапопорт, Н.А. Шубина, Н.В. Семенова. - М.: Медпрактика, 2007. - 135 с.
2. Bourliere M., Penaranda G., Ouzan D. et al. Optimized stepwise combination algorithms of non invasive liver fibrosis scores including Hepascore in HCV patients // *Am. J. Trop. Med. Hyg.* - 2010. - Vol. 82, № 3. - P. 454-458.
3. Candelli M., Cazzato I.A., Nista E.C. et al. 13C-methacetin breath test and oxygen supply // *Aliment. Pharmacol. Ther.* - 2003. - Vol. 18, № 52, № 1. - P. 239-240.
4. Chen J., Wang Y., Wu X. et al. Down-regulation of PD-1 expression on lymphocytes in chronic hepatitis B patients with pegylated interferon α-2b treatment and the correlation with cytokines // *J. Hepatol.* - 2010. - Vol. 52, № 1. - P. 239-240.
5. Das S. K. Role of Cytokines in the Pathogenesis of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease / S. K. Das, V. Balakrishnan // *Ind J Clin Biochem.* - 2011. - Vol. 26, № 2. - P. 202-209.
6. Gao B. Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and New Therapeutic Targets / B. Gao, R. Bataller // *Gastroenterology.* - 2011. - Vol. 141, № 5. - P. 1572-1585.
7. Goertz R.S., Zopf Y., Jugl V. Et al. Measurement of liver elasticity with acoustic radiation force impulse (ARFI) technology: an alternative noninvasive method for staging liver fibrosis in viral hepatitis // *Ultraschall. Med.* - 2010. - Vol. 31, № 2. - P. 151-155.
8. Li K., Li N., Wei D. et al. Activation of chemokine and inflammatory cytokine response in hepatitis C virus-infected hepatocytes depends on Toll-like receptor 3 sensing of hepatitis C virus double-stranded RNA intermediates // *Hepatology.* - 2012. - Vol. 55, № 3. - P. 666-675.
9. Miller A. M., Horiguchi N., Jeong W. I. Et al. Molecular Mechanisms of Alcoholic Liver Disease: Innate Immunity and Cytokines // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research.* 2011. - Vol. 35, № 5. - P. 787-793.
10. Mishra P., Bhargava A., Vashistha P. et al. Mediators of the immune system and their possible role in pathogenesis of chronic hepatitis B and C viral infections // *AsPac. J. Mol. Biol. Biotechnol.* - 2010. - Vol. 18, № 3. - P. 341-349.
11. Petrolati A., Festi D., De Berardinis G. et al. 13C-Methacetin breath test for monitoring hepatic function in cirrhotic patients before and after liver transplantation // *Aliment. Pharmacol. Ther.* - 2004. - Vol. 19, № 2. - P. 243.
12. Stauber R.E., Lackner C. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis in chronic hepatitis C // *World J. Gastroenterol.* - 2007. - Vol. 13, № 32. - P. 4287-4294.
13. Zipprich A., Meiss F., Studel N. et al. 13C-Methacetin metabolism in patients with cirrhosis: relation to disease severity, haemoglobin content and oxygen supply // *Aliment. Pharmacol. Ther.* - 2003. - Vol. 17, № 12. - P. 1559-1562.

Взаимосвязь сывороточного уровня провоспалительных цитокинов с результатами ¹³C-метацетинового дыхательного теста у больных хроническими гепатитами

И.Л. Кляритская, Е.И. Стилиди

Цель: выявить корреляцию провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли альфа (ФНО-α) и интерлейкина-6 (ИЛ-6)) с результатами ¹³C-метацетинового дыхательного теста (¹³C-МДТ), как показателя фиброза, у пациентов с хроническим вирусным гепатитом (ХВГ), неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ) и алкогольным гепатитом (АГ).

Материалы и методы. Было обследовано 147 больных хроническим гепатитом. Пациенты были разделены на 3 группы: I (группа ХВГ) – 50 больных ХВГ В и С; II (группа НАСГ) – 49 больных НАСГ; III (группа АГ) – 48 больных АГ. Контрольная группа – 25 практически здоровых лиц. ФНО-α и ИЛ-6 определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа. Биопсия печени выполнена 46 пациентам. ¹³C-МДТ проведен 57 пациентам.

С целью изучения антифибротического действия лозартана были отобраны 96 пациентов: 33 больных ХВГ, 33 больных НАСГ, 30 больных АГ. Больные были разделены на две подгруппы. Первая подгруппа (39 человек) получала базисную терапию (в зависимости от этиологии заболевания). Во вторую подгруппу вошли 57 пациентов, которые получали базисную терапию и антифибротическую терапию (лозартан) в суточной дозе 50 мг ежедневно. Период контролируемого лечения составил 24 недели.

Результаты и их обсуждение. Обнаружена обратная корреляционная связь кумулятивной дозы ¹³CO₂ с сывороточным уровнем ФНО-α у больных ХВГ ($r = -0,87$; $p = 0,001$), НАСГ ($r = -0,84$; $p < 0,01$), АГ ($r = -0,72$; $p < 0,01$) и ИЛ-6 у пациентов с ХВГ ($r = -0,65$; $p = 0,001$), НАСГ ($r = -0,74$; $p < 0,01$), АГ ($r = -0,73$; $p < 0,01$).

У больных ХВГ с нормальной функцией печени (масса функционирующих гепатоцитов (МФГ) = 100%) по результатам ¹³C-МДТ сывороточная концентрация ФНО-α и ИЛ-6 составила (46,75±6,28) пг/мл и (27,13±9,17) пг/мл, соответственно, превысив в 2,5 (для ФНО-α) и 1,8 (для ИЛ-6) раза показатели контрольной группы. При нарушении функции печени (МФГ менее 100%) по результатам ¹³C-МДТ наблюдался резкий подъем сывороточной концентрации цитокинов, который превышал в 5,3 (для ФНО-α) и 4,5 (для ИЛ-6) раз показатели контрольной группы.

У больных НАСГ с нормальной функцией печени сывороточная концентрация ФНО-α и ИЛ-6 составила (28,26±6,27) пг/мл и (33,06±6,98) пг/мл, соответственно, превысив в 1,5 (для ФНО-α) и 2,1 (для ИЛ-6) раза показатели контрольной группы. При нарушении функции печени уровень ФНО-α и ИЛ-6 составил (52,95±6,89) пг/мл и (82,76±8,91) пг/мл, соответственно, превысив в 2,8 (для ФНО-α) и 5,4 (для ИЛ-6) раз показатели контрольной группы.

У больных АГ с нормальной функцией печени сывороточная концентрация ФНО-α и ИЛ-6 составила (51,89±9,67) пг/мл и (42,28±7,69) пг/мл, соответственно, превысив почти в 3 раза показатели контрольной группы. При нарушении функции печени уровень ФНО-α и ИЛ-6 составил (158,62±15,54) пг/мл и (107,32±8,85) пг/мл, соответственно, превысив в 8,7 (для ФНО-α) и 7,1 (для ИЛ-6) раз показатели контрольной группы.

По данным ¹³C-МДТ при F3 по шкале METAVIR масса функционирующих гепатоцитов после использования лозартана увеличилась на 34%, по сравнению с результатами, полученными после применения базисных препаратов. Для F1 и F2 по шкале METAVIR данная разница составила 13% и 7%.

Выводы. Сывороточная концентрация ФНО-α и ИЛ-6 ассоциирована с количеством функционирующих гепатоцитов и степенью нарушения функции печени. Длительное, на протяжении 6 месяцев, применение в комплексной терапии больных ХВГ, НАСГ и АГ лозартана в суточной дозе 50 мг сопровождается улучшением показателей ¹³C-МДТ, что свидетельствует об увеличении массы функционирующих гепатоцитов.

Ключевые слова: хронические гепатиты, метацетиновый дыхательный тест, цитокины, лозартан

Взаємозв'язок сироваткового рівня прозапальних цитокінів з результатами ^{13}C -метацетинового дихального тесту у хворих на хронічні гепатити

І.Л. Клярітська, О.І. Стіліді

Мета: виявити кореляцію прозапальних цитокінів (фактора некрозу пухлини альфа (ФНП- α) та інтерлейкіну-6 (ІЛ-6)) з результатами ^{13}C -метацетинового дихального тесту (^{13}C -МДТ), як показника фіброзу, у пацієнтів з хронічним вірусним гепатитом (ХВГ), неалкогольним стеатогепатитом (НАСГ) і алкогольним гепатитом (АГ).

Матеріали і методи. Було обстежено 147 хворих на хронічний гепатит. Пацієнти були розділені на 3 групи: I (група ХВГ) – 50 хворих на ХВГ В і С; II (група НАСГ) – 49 хворих на НАСГ; III (група АГ) – 48 хворих на АГ. Контрольна група – 25 практично здорових осіб. ФНП- α та ІЛ-6 визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу. Біопсія печінки виконана 46 пацієнтам. ^{13}C -МДТ проведено 57 пацієнтам.

З метою вивчення антифібротичної дії лозартану були відібрані 96 пацієнтів: 33 хворих на ХВГ, 33 – на НАСГ, 30 – на АГ. Хворі були розділені на дві підгрупи. Перша підгрупа (39 осіб) отримувала базисну терапію (залежно від етіології захворювання). У другу підгрупу увійшли 57 пацієнтів, які отримували базисну і антифібротичну терапію (лозартан у добовій дозі 50 мг щодня). Період контролюваного лікування склав 24 тижні.

Результати та їх обговорення. Було виявлено зворотний кореляційний зв'язок кумулятивної дози ^{13}C з сироватковим рівнем ФНП- α у хворих на ХВГ ($r = -0,87$; $p = 0,001$), НАСГ ($r = -0,84$; $p < 0,01$), АГ ($r = -0,72$; $p < 0,01$) та ІЛ-6 у пацієнтів з ХВГ ($r = -0,65$; $p = 0,001$), НАСГ ($r = -0,74$; $p < 0,01$), АГ ($r = -0,73$; $p < 0,01$).

У хворих на ХВГ з нормальною функцією печінки (маса функціонуючих гепатоцитів (МФГ) = 100%) за результатами ^{13}C -МДТ сироваткова концентрація ФНП- α та ІЛ-6 склала ($46,75 \pm 6,28$) пг/мл і ($27,13 \pm 9,17$) пг/мл, відповідно, що перевищило в 2,5 (для ФНП- α) і 1,8 (для ІЛ-6) рази показники контрольної групи. При порушенні функції печінки (МФГ менш ніж 100%) за результатами ^{13}C -МДТ спостерігався різкий підйом сироваткової концентрації цитокінів, що перевищувала у 5,3 (для ФНП- α) і 4,5 (для ІЛ-6) раз показники контрольної групи.

У хворих на НАСГ з нормальною функцією печінки сироваткова концентрація ФНП- α та ІЛ-6 склала ($28,26 \pm 6,27$) пг/мл і ($33,06 \pm 6,98$) пг/мл, відповідно, перевищивши в 1,5 (для ФНП- α) і 2,1 (для ІЛ-6) рази показники контрольної групи. При порушенні функції печінки рівень ФНП- α та ІЛ-6 склав ($52,95 \pm 6,89$) пг/мл і ($82,76 \pm 8,91$) пг/мл, відповідно, перевищивши в 2,8 (для ФНП- α) і 5,4 (для ІЛ-6) раз показники контрольної групи.

У хворих АГ з нормальною функцією печінки сироваткова концентрація ФНП- α та ІЛ-6 склала ($51,89 \pm 9,67$) пг/мл і ($42,28 \pm 7,69$) пг/мл, відповідно, що перевищило майже в 3 рази показники контрольної групи. При порушенні функції печінки рівень ФНП- α та ІЛ-6 склав ($158,62 \pm 15,54$) пг/мл і ($107,32 \pm 8,85$) пг/мл, відповідно, перевищивши в 8,7 (для ФНП- α) і 7,1 (для ІЛ-6) раз показники контрольної групи.

За даними ^{13}C -МДТ при F3 за шкалою METAVIR після використання лозартану МФГ збільшилася на 34%, порівняно з результатами, отриманими після застосування базисних препаратів. Для F1 і F2 за шкалою METAVIR дана різниця склала 13% і 7%.

Висновки. Сироваткова концентрація ФНП- α та ІЛ-6 асоційована з кількістю функціонуючих гепатоцитів і ступенем порушення функції печінки. Тривале, протягом 6 місяців, застосування в комплексній терапії хворих на ХВГ, НАСГ та АГ лозартану у добовій дозі 50 мг супроводжується поліпшенням показників ^{13}C -МДТ, що свідчить про збільшення маси функціонуючих гепатоцитів.

Ключові слова: хронічні гепатити, метацетиновий дихальний тест, цитокіни, лозартан

The relationship between serum proinflammatory cytokines levels and results of ^{13}C -methacetin breath test in patients with chronic hepatitis

IL Klyarytskaya, EI Stilidi

Aim: to determine the correlation between proinflammatory cytokines (tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6)) with the results ^{13}C -methacetin breath test (^{13}C -MBT) as an indicator of fibrosis in patients with chronic viral hepatitis (CVH), nonalcoholic steatohepatitis (NASH), and alcoholic hepatitis (AH).

Materials and methods. We examined 147 patients with chronic hepatitis. Patients were

divided into 3 groups: I (group CVH) – 50 patients with chronic viral hepatitis B and C; II (group NASH) – 49 patients with NASH; III (group AH) – 48 patients with AH. The control group – 25 healthy individuals. TNF- α and IL-6 was determined by ELISA. A liver biopsy performed to 46 patients. 13C-MDT was held in 57 patients.

To study the antifibrotic action of losartan 96 patients were selected: 33 patients with CVH, 33 patients with NASH, 30 patients with AH. Patients were divided into two subgroups. The first subgroup (39 patients) received standard treatment (depending on the etiology of disease). The second subgroup included 57 patients who received standard treatment and antifibrotic therapy (losartan) in a dose of 50 mg daily. Controlled treatment period was 24 weeks.

Results and discussion. Found an inverse correlation of the cumulative dose of $^{13}\text{C}02$ with serum levels of TNF- α in patients with CVH ($r = -0,87$; $p = 0.001$), NASH ($r = -0,84$; $p < 0.01$), AH ($r = -0,72$, $p < 0.01$) and IL-6 in patients with CVH ($r = -0,65$; $p = 0.001$), NASH ($r = -0,74$; $p < 0.01$), AH ($r = -0,73$, $p < 0.01$).

In CVH patients with normal liver function (functioning hepatocyte mass (FHM) = 100%) on the results of 13C-MDT serum concentrations of TNF- α and IL-6 was ($46,75 \pm 6,28$) pg / ml and ($27,13 \pm 9,17$) pg / ml, respectively, exceeded 2.5 (for TNF- α) and 1.8 (for the IL-6) times to controls. In abnormal liver function (FHM less than 100%) on the results of 13C-MDT was a sharp rise in serum cytokine concentrations that exceeded 5.3 (for TNF- α) and 4.5 (for IL-6) times the performance of the control group.

In NASH patients with normal liver function, serum concentrations of TNF- α and IL-6 were ($28,26 \pm 6,27$) pg/ml and ($33,06 \pm 6,98$) pg/ml, respectively, exceeding the 1.5 (for TNF- α) and 2.1 (for the IL-6) times to controls. In abnormal liver function levels of TNF- α and IL-6 were ($52,95 \pm 6,89$) pg / ml and ($82,76 \pm 8,91$) pg/ml, respectively, exceeding the 2.8 (for TNF- α) and 5.4 (for IL-6) times to controls.

AH patients with normal liver function, serum concentrations of TNF- α and IL-6 were ($51,89 \pm 9,67$) pg / ml and ($42,28 \pm 7,69$) pg/ml, respectively, exceeding by almost 3 times control group. In abnormal liver function levels of TNF- α and IL-6 was ($158,62 \pm 15,54$) pg/ml and ($107,32 \pm 8,85$), respectively, exceeding the 8.7 (for TNF- α) and 7.1 (for IL-6) times to controls.

According to 13C-MDT at F3 METAVIR mass of hepatocytes increased by 34%, after the use of losartan, in compare with the results obtained after the application of basic drugs. For F1 and F2 METAVIR this difference was 13% and 7%.

Conclusions. Serum TNF- α and IL-6 associated with the amount of hepatocytes and the degree of liver dysfunction. Long-term losartan use (for 6 months) in a daily dose of 50 mg in treatment of patients with chronic viral hepatitis, NASH and AH followed by improvements in 13C-MDT, indicating an increase functioning hepatocyte mass.

Keywords: chronic hepatitis, methacetin breath test, cytokines, losartan