Куликов В.Е., Хапман М.Э., Емелина Т.А., Антонова Э.Р., Николаева К.В.,
Мартынова А.Ю.

*Ульяновский государственный университет
Ульяновск, Россия*

doi: 10.18411/lj2016-7-1-13

idsp 000001: lj2016-16-1-13

Динамика цитокинов и их взаимосвязи с клинико-биохимическими показателями крови на фоне портальной гипертензии при циррозах печени

**Kulikov V.E., Hapman M. A., Emelina T.A.,
Antonova E.R., Nikolaeva K.V., Martinova A.Y.**

Dynamics of cytokin status to portal hypertension in liver cirrhosis

Abstract

Indexes of clinical and laboratory syndromes were determined for liver cirrhosis cases of Class A,B, C according to Chad - Pugh and the degree of their interrelation with IL - 2, IL - 6 and TNF - α was determined. The correlation of blood indexes and the level of cytokines was found to be dependent on a series of factors. Correlation is found between erythrocytes and IL - 2 ($r = 0,711$), IL - 6 ($r = - 0,64$) in liver cases of class A, erythrocytes and IL - 2 ($r = - 0,512$), IL - 6 ($r = - 0,64$) in liver cases of class C. Correlation is found between leukocytes and IL - 6 ($r = 0,67$) in liver cases of class A, between leukocytes and IL - 6 ($r = 0,576$) in liver cases of class C, between leukocytes and TNF - α ($r = 0,464$) in liver cases of class C. Correlation is found between thrombocytes and TNF - α ($r = - 0,826$) in liver cases of class A. Correlation is found between prothrombin and IL - 2 ($r = 0,66$) in liver cases of class A, between prothrombin and IL - 2 ($r = 0,47$) in liver cases of class C, between prothrombin and IL - 6 ($r = - 0,46$), PTT ($r = 0,58$), between IL - 2 and fibrinase ($r = 0,64$), SMFC ($r = 0,57$) in liver cases of class A.

Key words: interleukin - 2, interleukin - 6, tumor necrosis factor alpha, cirrhosis of liver.

Аннотация

В статье представлены результаты изучения уровней сывороточных концентраций интерлейкина - 2, интерлейкина - 6, фактора некроза опухоли альфа при циррозах печени вирусной этиологии классов А, В, С по Chald - Pugh и их взаимосвязи с клинико- биохимическими показателями крови.

Ключевые слова: интерлейкин - 2, интерлейкин - 6, фактор некроза опухоли альфа, цирроз печени.

Определение цитокинов в клинике внутренних болезней преследует различные цели - от оценки тяжести течения процесса до эффективности терапии и прогнозирования течения заболевания. В настоящее время не достаточно изучены частота возникновения и характер осложнений на фоне влияния цитокинов на активацию патологического процесса в печени [1, 2]. Существуют данные об активации цитокинового каскада при ЦП. Так гиперпродукция ФНО - α и ИЛ - 6 вызывает повреждение печени и коррелирует с тяжестью течения ЦП [3]. В научной литературе имеются сообщения, что иммунитет и гемостаз составляют, как правило, единое целое. Установлено, что связующим звеном между резистентностью, клеточным и гуморальным иммунитетами, сосудисто - тромбоцитарным гемостазом, процессом свертывания крови могут являться цитокины, например, ФНО - α , ИЛ - 6 [4, 5]. Так за последние 10 - 15 лет существенно изменили представления о роли цитокинов в общем гемостазе, синтезе огромного количества биологически активных веществ, играющих важную роль в норме и патологии (гемодинамике, гемостазе, иммунных реакциях, регенерации) [6, 7]. В частности, особое внимание в настоящее время уделяется влиянию интерлейкинов - 2, ИЛ - 6 и ФНО - α на течение, прогноз ЦП и его осложнений [8, 9].

Материалы и методы исследований

Основные выводы работы основаны на научном материале, полученном при исследовании 117 пациентов циррозами печени (ЦП) вирусной этиологии

(ХВГ) без сопутствующих основному диагнозу воспалительных процессов органов и систем в стадии обострения, повышения гормонального статуса и артериальной гипертензии 3 степени. У наибольшего количества больных ($n = 54$ (46,1%)) ЦП развивался на фоне HCV - инфекции, HBV - инфекции - у 41 (35,1%) и микс - инфекции (HCV + HBV) - у 22 (18,8%) пациентов. На фоне ХВГ ЦП развивались преимущественно от 10 и более лет с момента установления диагноза. Наименьший период развития ЦП отмечался у больных смешанной этиологии (HBV + HCV - инфекций), но в тоже время статистически не достоверно ($p = 0,079$) в сравнении с больными других этиологией. В среднем ЦП развивался в течении $10,1 \pm 2,8$ лет и имел место во всех возрастных периодах больных. ЦП чаще развивался у мужчин ($n = 91$ (77,8%)), чем у женщин ($n = 26$ (22,2%)) и в более молодом возрасте - у мужчин в возрастном интервале $55,4 \pm 2,9$ лет, у женщин - $62,3 \pm 3,5$ лет. Средний возраст всех больных составил $57,3 \pm 4,6$ лет.

Диагноз заболевания с верификацией результатов диагностики и лечения ставился в полном соответствии с классификацией экспертов ВОЗ (Лос - Анджелес, 1994) и Национальных клинических рекомендаций Всероссийского научного общества гастроэнтерологов (2011). На основании классификации ЦП по Chald - Pugh (1996) пациенты были разделены на 3 группы: I группу составили больные ($n = 38$) Chald - Pugh класса А с ФНО - α и ИЛ - 2, - 6; II группу - больные ($n = 40$) Chald - Pugh класса В с ФНО - α и ИЛ - 2, - 6; в III группу вошли больные ($n = 39$) Chald -Pugh класса С с ФНО - α и ИЛ - 2, - 6. Контрольную группу составили 30 здоровых добровольцев (доноры крови).

Для определения уровней цитокинемий изучались концентрации интерлейкина - 2 (ИЛ - 2), интерлейкина - 6 (ИЛ - 6) и фактора некроза опухоли альфа (ФНО - α), их исследования были основаны на методе твердофазного «сэндвич» - варианте иммуноферментного анализа. Для получения результатов и динамических наблюдений, адекватно отражающих изменение концентраций ИЛ - 2, ИЛ - 6 и ФНО - α в крови, использовались наборы реагентов одного

наименования («Интерлейкин - 2 - ифа - бест, «Интерлейкин - 6 - ифа - бест» и «ФНО - альфа - ифа - бест») и одного того же предприятия - изготовителя (Н.Новгород). Концентрации цитокинов - ИЛ - 2, ИЛ - 6 и ФНО - α измерялись в крови с 9 до 11 часов.

Степень достоверности работы состояла из нескольких этапах. На первом этапе классическим методом, основанным на теории выборки, был проведен расчет объема нужной статистической выборки. Полученный статистический материал группировался в вариационные ряды, которые далее анализировались на соответствие распределения с помощью дескриптивной статистики, закона распределения Гаусса - Лапласа. Также использовались непараметрические методы статистики, основыванные на конкордации Кендалла и критериев Фридмана. Были использованы средние величины, в сравнительном анализе учитывался показатель $M \pm SD$. На втором этапе обработки полученного статистического материала была проведена группировка данных по вариационным рядам с учетом величины статистической значимости результатов при $p < 0,05$. По величинам интерквартильного размаха оценивалась величина распределения плотности Гаусса. С помощью корреляционно - матричного метода статистики Спирмена осуществлялось определение степени взаимосвязи между отдельными признаками. Непосредственно статистическая обработка осуществлялась при помощи статистической программы Stat Soft Statistica, версия 8.0.

Результаты и их обсуждения

Изменения биохимических показателей крови наблюдались во всех случаях и в зависимости от стадии компенсации заболевания их значения изменялись - были минимальные или выраженные с учетом их снижения и / или повышения. Была выявлена динамика снижения уровней АлАТ от $67,7 \pm 32,2$ - $47,7 \pm 30,7$ до $35,3 \pm 28,1$ ед/л и АсАТ от $109,6 \pm 47,4$ - $94,9 \pm 41,6$ до $60,9 \pm 22,8$ ед/л у больных ЦП в группах Chald - Pugh классов А, В, С соответственно. Из показателей системы гемостаза отмечалось снижение толерантности плазмы к

гепарину и концентрации фибриногена, имела место как гипо- и гиперкоагуляция. Фибринолитическая активность крови у 1/3 больных была повышена, что свидетельствовало о легких и/или глубоких нарушениях в системе гемостаза, а также о возможности развития ДВС - синдрома. Из показателей системы гемостаза отмечалось снижение фибриназы от $66,1 \pm 6,1 - 60,7 \pm 8,9$ до $41,1 \pm 4,1$ сек, РМФК $4,4 \pm 1,3 - 4,1 \pm 1,1$ до $3,8 \pm 1,0$ мг% и повышение АЧТВ от $36,8 \pm 4,6 - 37,7 \pm 3,7$ до $39,8 \pm 7,2$ сек у больных ЦП в группах классов А, В и С.

Изученные взаимосвязи между уровнями ИЛ - 2, ИЛ - 6, ФНО - α и показателями биохимического состава крови у больных ЦП классов А, В, С представлены в таблице 1.

Из данных, представленных в таблице 1, видно, что при снижении гемостаза между составом коагулограммы и цитокинами значимые корреляционные взаимосвязи отмечаются между протромбином и ИЛ - 2 при ЦП класса А ($r = 0,66$), класса С ($r = 0,47$), при ЦП класса А - между ИЛ - 6 и протромбином ($r = - 0,46$), АЧТВ ($r = 0,58$), между ИЛ - 2 и фибриной ($r = 0,64$), РМФК ($r = 0,57$). При цитолитическом синдроме значимые корреляционные взаимосвязи отмечались между АлАТ и ФНО - α ($r = - 0,546$), АсАТ и ИЛ - 6 ($r = 0,576$), АлАТ/АсАТ ($r = - 0,575$) при ЦП класса А, между АлАТ и ИЛ - 2 ($r = 0,673$), АсАТ и ИЛ - 2 ($r = 0,791$) при ЦП класса С. При уровнях цитокинов выше референсных значений сильная взаимосвязь отмечается между АЛТ/АСТ и ИЛ - 6 ($r = - 0,653$), между тромбоцитами и ФНО - α ($r = - 0,844$).

Таблица 1

Результаты значений корреляции Спирмена

Биохимические показатели крови	ЦП Chald - Pugh класса А (n = 38)		
	ИЛ - 2	ИЛ - 6	ФНО - α
АлАТ, ед/л	-0,164	0,070	-0,546
АсАТ, ед/л	-0,005	0,576	-0,641
АлАТ/АсАТ, усл.ед	0,275	-0,575	-0,00
Протромбин, %	0,661	-0,463	-0,101
Фибриназа, сек	0,641	0,000	-0,396
РМФК, мг%	0,575	-0,256	-0,216
АЧТВ, сек	-0,263	0,575	-0,711
МНО, ед	-0,109	-0,078	-0,017
Биохимические показатели крови	ЦП Chald - Pugh класса В (n = 40)		

АлАТ, ед/л	-0,141	0,272	0,147
АсАТ, ед/л	-0,179	0,167	0,129
АлАТ/АсАТ, усл. ед	0,16	-0,03	-0,08
Протромбин, %	0,003	-0,176	0,113
Фибриназа, сек	-0,168	-0,353	-0,268
РМФК, мг%	-0,169	-0,042	-0,039
АЧТВ, сек	0,269	0,098	0,012
МНО, усл. ед	-0,111	-0,088	-0,015
Биохимические показатели крови	ЦП Chald - Pugh класса С (n = 39)		
АлАТ, ед/л	0,673	-0,211	-0,089
АсАТ, ед/л	0,791	-0,379	-0,298
АлАТ/АсАТ, усл. ед	0,20	0,17	0,001
Протромбин, %	0,475	-0,066	-0,363
Фибриназа, сек	0,169	0,415	0,023
РМФК, мг%	0,016	-0,033	0,124
АЧТВ, сек	0,061	-0,050	0,162
МНО, усл. ед	0,161	0,150	-0,012

Примечание: приведены значения при CI = 0,95(±)

В клиническом анализе крови у больных ЦП классов А, В и С отмечались снижения гемоглобина, эритроцитов, тромбоцитов, но в тоже время наблюдаются лейкоцитоз и повышение СОЭ. Результаты значений коэффициентов корреляции взаимосвязи Спирмена между значениями показателей клинического анализа крови и уровнями значений ИЛ - 2, ИЛ - 6, ФНО - α представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты значений корреляции Спирмена

Основные клинические показатели крови	Значения коэффициентов		
	Диагноз		
ЦП Chald - Pugh класса А			
	ИЛ - 2	ИЛ - 6	ФНО - α
Гемоглобин, г/л	0,619	-0,683	0,406
Эритроциты, x 10 ¹² /л	0,711	-0,644	0,204
Лейкоциты, x 10 ⁹ /л	-0,248	0,676	-0,230
Тромбоциты, x 10 ⁹ /л	0,131	0,229	-0,826
СОЭ, мм/ч	-0,109	-0,070	-0,546
ЦП Chald - Pugh класса В			
Гемоглобин, г/л	0,392	0,097	0,150
Эритроциты, x 10 ¹² /л	-0,020	0,102	-0,430
Лейкоциты, x 10 ⁹ /л	-0,480	0,023	0,135
Тромбоциты, x 10 ⁹ /л	-0,227	-0,333	-0,266
СОЭ, мм/ч	-0,140	0,272	0,147
ЦП Chald - Pugh класса С			
Гемоглобин, г/л	0,172	0,223	0,078
Эритроциты, x 10 ¹² /л	-0,512	0,322	0,266
Лейкоциты, x 10 ⁹ /л	-0,123	0,576	0,464
Тромбоциты, x 10 ⁹ /л	-0,106	-0,010	-0,087
СОЭ, мм/ч	-0,231	-0,004	0,182

Примечание: приведены значения при CI = 0,95(±)

Из данных, представленных в таблице 2, видно, что в клиническом анализе между составом крови и уровнем цитокинемии взаимосвязь не однозначная. С развитием анемии значимые корреляционные взаимосвязи в виде прямой,

обратной наблюдаются между эритроцитами и ИЛ - 2 ($r = 0,711$), ИЛ - 6 ($r = -0,64$) при ЦП класса А, в виде обратной ($r = -0,512$) - между эритроцитами и ИЛ - 2 при ЦП класса С. Значимая прямая взаимосвязь между лейкоцитами и ИЛ - 6 отмечается при ЦП классов А ($r = 0,67$), С ($r = 0,576$), между лейкоцитами и ФНО - α ($r = 0,464$) при ЦП класса С. Тромбоцитопения сопровождается высокой обратной ($r = -0,826$) взаимосвязью между тромбоцитами и ФНО - α при ЦП класса А.

Выводы

1. В клиническом анализе между составом крови и уровнем цитокинемии взаимосвязь не однозначная. С развитием анемии значимые корреляционные взаимосвязи в виде прямой, обратной наблюдаются между эритроцитами и ИЛ - 2 ($r = 0,711$), ИЛ - 6 ($r = -0,64$) при ЦП класса А, в виде обратной ($r = -0,512$) - между эритроцитами и ИЛ - 2 при ЦП класса С. Значимая прямая взаимосвязь между лейкоцитами и ИЛ - 6 отмечается при ЦП класса А ($r = 0,67$), класса С ($r = 0,576$), между лейкоцитами и ФНО - α ($r = 0,464$) при ЦП класса С. Тромбоцитопения сопровождается высокой обратной ($r = -0,826$) взаимосвязь между тромбоцитами и ФНО - α при ЦП класса А.
2. При снижении гемостаза между составом коагулограммы и цитокинами значимые корреляционные взаимосвязи отмечаются между протромбином и ИЛ - 2 при ЦП класса А ($r = 0,66$), класса С ($r = 0,47$), между ИЛ - 6 и протромбином ($r = -0,46$), АЧТВ ($r = 0,58$), между ИЛ - 2 и фибрином ($r = 0,64$), РМФК ($r = 0,57$) при ЦП класса А.

Литература:

1. Ивашкин, В.Т. Осложнения портальной гипертензии при циррозе печени / В.Т. Ивашкин // Российский физиологический журнал. – 2009. – №10. – С. 74–76.
2. Nagano, T. Cytokine profile in the liver of primary biliary cirrhosis / T. Nagano [et al.] // J. Clin. Immunol. – 1999. – Vol. 19. – P. 422–426.
3. Navasa, M.C. Tumor necrosis factor and interleukin - 6 in spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: relationship with the development of renal impairment and mortality / M. Navasa [et al.] // J. Hepatol. – 1998. – Vol. 27. – P. 1226–1232.
4. Iwakiri, Y. The hyperdynamic circulation of chronic liver diseases: from the patient to the molecule / Y.I. wakiri, R.J. Groszmann // Hepatology. – 2006. – Vol. 43, Suppl.1. – P. 122-130.
5. Chen, T.A. Effect of intravenous albumin on endotoxin removal, cytokines, and nitric oxide production in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis / T.A. Chen, T Y.Csao, T.A. Chen // Scand. J. Gastroenterol. – 2009. – Vol.44, № 5. – P. 619-625.
6. Cytokine profile in the liver of primary biliary cirrhosis / T. Nagano [et al.]. // J. Clin. Immunol. – 1999. – Vol. 19. – P. 422–426.
7. Мироджанов, Г.К. Интерлейкин - 6 и оксид азота в патогенезе портальной гипертензии и декомпенсации цирроза печени / Г.К. Мироджанов [и др.] // Клиническая медицина. – 2012. – №1. – 47-53.
8. Köksal, A. S., Koklu S., Ibic M. Clinical features, serum interleukin-6, and interferon-gamma levels of 34 Turkish patients with hepatportal sclerosis / A.S. Köksal [et al.] // Dig. Dis. Sci. – 2007. – Vol. – 52 (12). – P. 3494–3497.
9. Plasma interleukin - 6 levels in patients with cirrhosis. Relationship to endotoxemia, tumor necrosis factor-alpha, and hyperdynamic circulation / F.Y. Lee [et al.] // Scand. J. Gastroenterol. – 1996. – Vol. 31. – P. 501–504.

References:

1. Ivashkin, V. T. Complications of portal hypertension at cirrhosis / V. T. Ivashkin//the Russian physiological magazine. – 2009. – №.10. – S. 74-76.
2. Nagano, T. Cytokine profile in the liver of primary biliary cirrhosis / T. Nagano [et al.] // J. Clin. Immunol. – 1999. – Vol. 19. – P. 422–426.
3. Navasa, M.C. Tumor necrosis factor and interleukin - 6 in spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: relationship with the development of renal impairment and mortality / M. Navasa [et al.] // J. Hepatol. – 1998. – Vol. 27. – P. 1226–1232.
4. Iwakiri, Y. The hyperdynamic circulation of chronic liver diseases: from the patient to the molecule / Y.I. wakiri, R.J. Groszmann // Hepatology. – 2006. – Vol. 43, Suppl.1. – P. 122-130.
5. Chen, T.A. Effect of intravenous albumin on endotoxin removal, cytokines, and nitric oxide production in patients with cirrhosis and spontaneous bacterial peritonitis / T.A. Chen, T Y.Csao, T.A. Chen // Scand. J. Gastroenterol. – 2009. – Vol.44, № 5. – P. 619-625.
6. Cytokine profile in the liver of primary biliary cirrhosis / T. Nagano [et al.]. // J. Clin. Immunol. – 1999. – Vol. 19. – P. 422–426.
7. Mirodzhanov, G. K. Interleukin - 6 and nitrogen oxide in pathogenesis of portal hypertension and a decompensation of cirrhosis / G. K. Mirodzhanov [etc.]//Clinical medicine. – 2012. – №. 1. – S. 47-53.
8. Köksal, A. S., Koklu S., Ibic M. Clinical features, serum interleukin-6, and interferon-gamma levels of 34 Turkish patients with hepatportal sclerosis / A.S. Köksal [et al.] // Dig. Dis. Sci. – 2007. – Vol. – 52 (12). – P. 3494–3497.
9. Plasma interleukin - 6 levels in patients with cirrhosis. Relationship to endotoxemia, tumor necrosis factor-alpha, and hyperdynamic circulation / F.Y. Lee [et al.] // Scand. J. Gastroenterol. – 1996. – Vol. 31. – P. 501–504.