

## ОСОБЛИВОСТІ ІМУНОЛОГІЧНОГО РЕАГУВАННЯ ОРГАНІЗМУ ПРИ HBV-ІНФЕКЦІЇ

М.А. Тимкович<sup>1</sup>, В.П. Малий<sup>2</sup>, Т.І. Лядова<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ужгородський національний університет, Україна

<sup>2</sup>Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна

<sup>3</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

### РЕЗЮМЕ

В результаті проведених імунологічних досліджень вивчено динаміку синтезу прозапальних та протизапальних цитокінів у пацієнтів з гострою та хронічною HBV-інфекцією та на основі їх аналізу встановлено чотири типи імунологічного реагування організму на HBV: нормореактивний, дисоціативний, гіпореактивний та гіперреактивний. Одержані результати дозволяють рекомендувати необхідність комплексного обстеження хворих на ГГВ та ХГВ з визначенням маркерів активної вірусної реплікації (а саме ДНК HBV) та рівня основних регуляторних цитокінів.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** прозапальні цитокіни, протизапальні цитокіни, типи імунологічного реагування

Сьогодні відомо, що характер імунної відповіді організму на антиген залежить від домінуючої участі клонів Т-лімфоцитів-хелперів (Th) 1-го або 2-го типу, які різняться за продукуєними ними цитокінами і участю в стимуляції розвитку імунної відповіді по клітинному або гуморальному типах [1, 2, 3, 5].

Дослідженнями останніх років встановлено, що цитокіновий спектр при HBV-інфекції залежить від збалансованості ланок імунної відповіді організму, а порушення балансу продукції цитокінів Th1/Th2 клітинами відіграє важливу роль в імунопатогенезі HBV-інфекції. Більшість дослідників сходяться на думці, що переважна участь цитокінів, що продукуються Th-2-лімфоцитами, асоціює з вірусною персистенцією та хронізацією процесу при HBV-інфекції, а Th-1 – зі спонтанним одужанням при ГГВ та елімінацією збудника.

Попри значні досягнення в цій галузі, багато питань характеру цитокінпродукуючої здатності імунокомпетентних клітин та їх імунопатогенетичних особливостей при гострій та хронічній HBV-інфекції і на сьогодні залишаються нез'ясованими, а літературні дані не містять однозначності та достатньої обґрунтованості. Цим і зумовлена актуальність та перспективність нашого дослідження [2, 4, 6].

Робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи Харківської медичної академії післядипломної освіти «Роль цитокінової регуляторної мережі у хворих на гострий вірусний гепатит В» № державної реєстрації 0103U004141.

Метою нашого дослідження було дослідити синтез прозапальних (ІЛ-1 $\beta$ , ФНП- $\alpha$ , ІЛ-6), регуляторного цитокіну ІЛ-2 та

протизапальних цитокінів (ІЛ-4 та ІЛ-10) для встановлення типу імунологічного реагування у пацієнтів з гострою та хронічною HBV-інфекцією.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для досягнення поставленої мети дослідження нами систематизовано динаміку синтезу досліджуваних цитокінів у 36 хворих з середньотяжким та тяжким перебігом ГГВ та у 54 хворих з мінімальною та слабковираженою активністю ХГВ, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в ОІЛ м.Ужгорода та гастроентерологічному відділенні ОКЛ м.Ужгорода. Вік хворих коливався від 19 до 65 років, серед них жінок було 41, чоловіків – 49 осіб. Контрольну групу складали 20 практично здорових осіб віком від 18 до 35 років.

Діагноз ГГВ та ХГВ встановлювали з урахуванням комплексу клініко-епідеміологічних, лабораторно-інструментальних даних та підтверджували виявленням у сироватці специфічних серологічних маркерів ГВ (HBsAg, анти-HBcIgM, анти-HBcIgG, HBeAg, анти-HBe) методом імуноферментного аналізу (ІФА) (ELISA) за допомогою тест-систем НВО «Диагностические системы» (Росія). На підставі негативних результатів індикації серологічних маркерів гепатитів А, С, D (анти-HAV IgM, анти-HCV сум., анти-HDV IgM) здійснювалося виключення мікст-гепатитів.

Сироваткові концентрації досліджуваних цитокінів: ІЛ-1 $\beta$ , ФНП- $\alpha$ , ІЛ-6, ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-10 визначалися за допомогою тест-систем ООО «Протеиновый контур» (Санкт-Петербург, Росія), користуючись інструкцією виробника з використанням твердофазного імуноферментного методу.

Матеріалом для наших досліджень була сироватка крові хворих, яка при ГГВ

отримана в розпалі хвороби і початку реконвалесценції, при хронічному ГВ – відповідно, при загостренні хвороби та клініко-лабора-торній ремісії.

Усім хворим у динаміці хвороби здійснювалось УЗД органів черевної порожнини за допомогою ультразвукового сканера Ultima Pro-30 виробництва «Радмір» (м. Харків, Україна) з використанням датчиків частотою 3,5-6 МГц за стандартною методикою.

Отримані результати досліджень статистично оброблені з використанням методів

варіаційної статистики (середнє – М, його помилка – m) за допомогою програм «Exsel-2000» та «Statistika for Windows» (Statsoft Inc, США) на комп'ютері із процесором CPU Athlon 64-3200 Tray.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

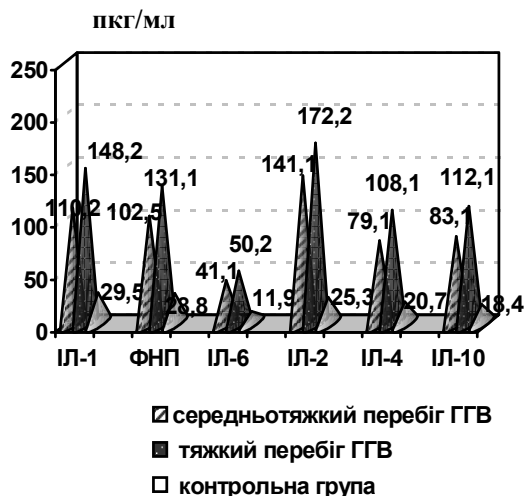
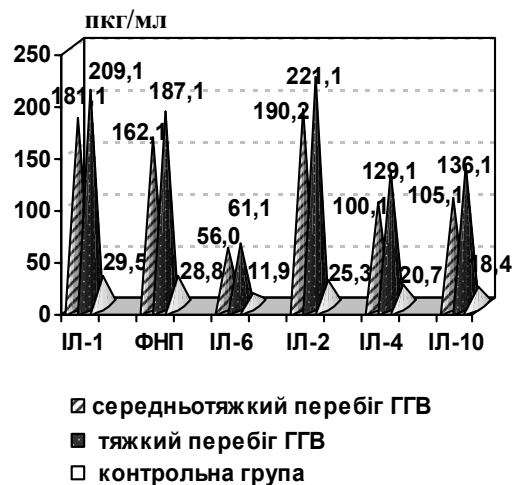


Рис. 1. Динаміка цитокінів у хворих на ГВ із нормореактивним типом імунологічного реагування у періодах розпалу (А) і реконвалесценції (Б)

При вивченні синтезу прозапальних та протизапальних цитокінів у хворих на ГВ із нормореактивним типом імунної відповіді (рис. 1) виявлялися розбіжності середніх показників цитокінів у досліджуваних групах порівняно з контрольними рівнями і спостерігалось вірогідне підвищення концентрацій (в середньому у 5,2-7,7 разів) всіх досліджуваних цитокінів відповідно до тяжкості перебігу у розпалі ГВ із тенденцією до вірогідного зниження їх рівнів у періоді реконвалесценції хвороби ( $p < 0,05$ ).

У хворих на ГВ із дисоціативним типом імунологічного реагування була встановлена низька продукція регуляторного ІЛ-2 та концентрація була досить низькою і в середньому у 2,5-3,5 рази перевищував показники контрольної групи, в той час як у хворих із нормореактивним типом рівні

Виявлені в динаміці хвороби зміни цитокінового синтезу у хворих на гострий та хронічний ГВ дозволили згрупувати прояви цитокінового дисбалансу і встановити різні типи імунологічного реагування організму на HBV-інфекцію. У ході аналізу отриманих результатів у хворих на ГВ були виявлені чотири типи імунологічного реагування (рис.1, 2, 3): I – нормореактивний тип (вірогідне підвищення прозапальних та протизапальних цитокінів), II – дисоціативний (високі показники прозапальних цитокінів на фоні низьких значень регуляторного ІЛ-2 та протизапальних цитокінів), III – гіпореактивний (низькі концентрації як прозапальних, так і протизапальних цитокінів) та IV – гіперреактивний (високі концентрації як прозапальних, так і протизапальних цитокінів).

протизапальних ІЛ-4 і ІЛ-10, тоді як рівні прозапальних цитокінів (ІЛ-1 $\beta$ , ФНП- $\alpha$  та ІЛ-6) підвищувалися пропорційно до ступеня тяжкості хвороби (рис. 2). У періоді розпалу при порівнянні середніх показників ІЛ-1 $\beta$ , ФНП- $\alpha$  та ІЛ-6 у хворих із дисоціативним та нормореактивним типами імунного реагування статистичної різниці не відмічалось ( $p > 0,05$ ), але їх показники значно перевищували відповідні рівні контрольної групи ( $p < 0,05$ ). Синтез ІЛ-2, ІЛ-4 та ІЛ-10 у пацієнтів із дисоціативним типом імунної відповіді у періоді розпалу ГВ (рис. 2А) теж підвищувався, але порівняно з відповідними даними у хворих із нормореактивним типом реагування їх останніх перевищували такі у групі контролю в середньому у 7-9 разів відповідно ( $p < 0,05$ ).

У періоді реконвалесценції ГВ у хворих

із дисоціативним типом імунного реагування динаміка прозапальних цитокінів була такою ж, як у хворих із нормореактивним типом, що підтверджувалося вірогідним зниженням показників досліджуваних цитокінів відносно періоду розпаду хвороби (рис. 2В). Рівні ІЛ-1 $\beta$ , ФНП- $\alpha$  та ІЛ-6 продовжували перевищувати такі як в контрольній групі у середньому у 3–6 разів ( $p<0,05$ ), тоді як в групі із нормореактивним типом імунного

реагування – у 1,3-1,6 раза відповідно ( $p>0,05$ ). У зазначений період у хворих із дисоціативним типом імунного реагування встановлено незначне зниження рівнів ІЛ-2, ІЛ-4 та ІЛ-10, порівняно з періодом розпаду захворювання ( $p>0,05$ ), але їх концентрації продовжували перевищувати відповідні показники групи контролю ( $p<0,05$ ) (в середньому у 2-2,5 раза).

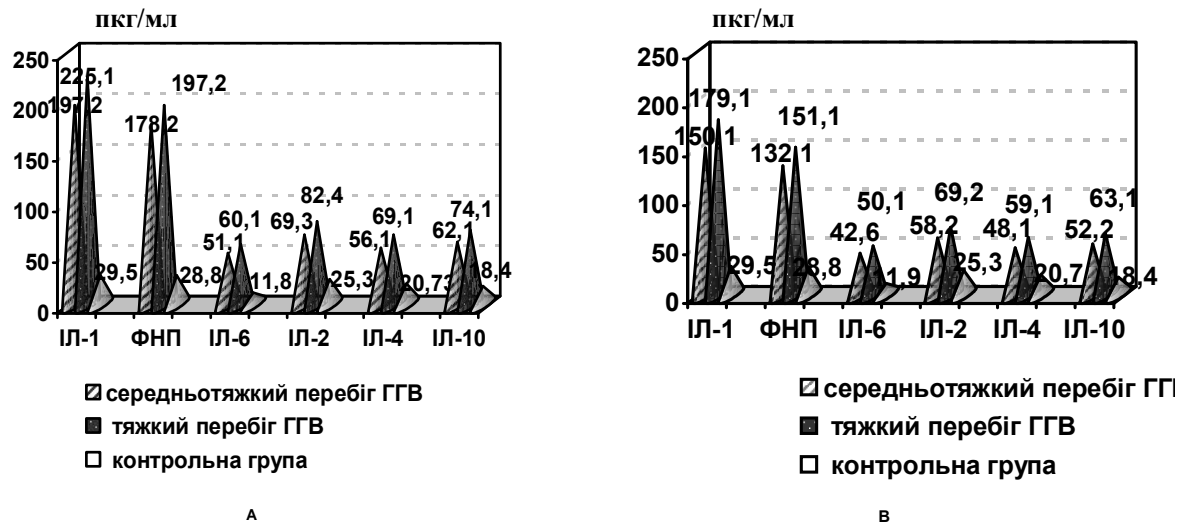


Рис. 2. Динаміка цитокінів у хворих на ГГВ із дисоціативним типом імунологічного реагування у періодах розпаду (А) і реконвалесценції (В)

Динаміка синтезу основних досліджуваних цитокінів у хворих на ГГВ при гіперреактивному типі імунологічного реагування представлена на рис. 3. Як видно з наведених результатів дослідження при гіперреактивному типі імунологічного реагування у хворих у періоді розпаду ГГВ виявлено достовірно високі рівні прозапальних та протизапальних цитокінів порівняно із нормореактивним типом (в середньому, у 1,5-2 рази) та групою контролю (в середньому у 8-10 разів) ( $p<0,05$ ). В подальшому, у періоді

реконвалесценції хвороби середні показники досліджуваних цитокінів мали тенденцію до вірогідного зниження, але все ще продовжували перевищувати рівні не тільки групи контролю, а і групи із нормореактивним типом імунного реагування. Слід відмітити, що показники відзначалися статистичною вірогідністю як у групах порівняння залежно від тяжкості перебігу ( $p<0,05$ ), так і порівняно з показниками при нормореактивному типі ( $p<0,05$ ) та контрольною групою ( $p<0,05$ ).

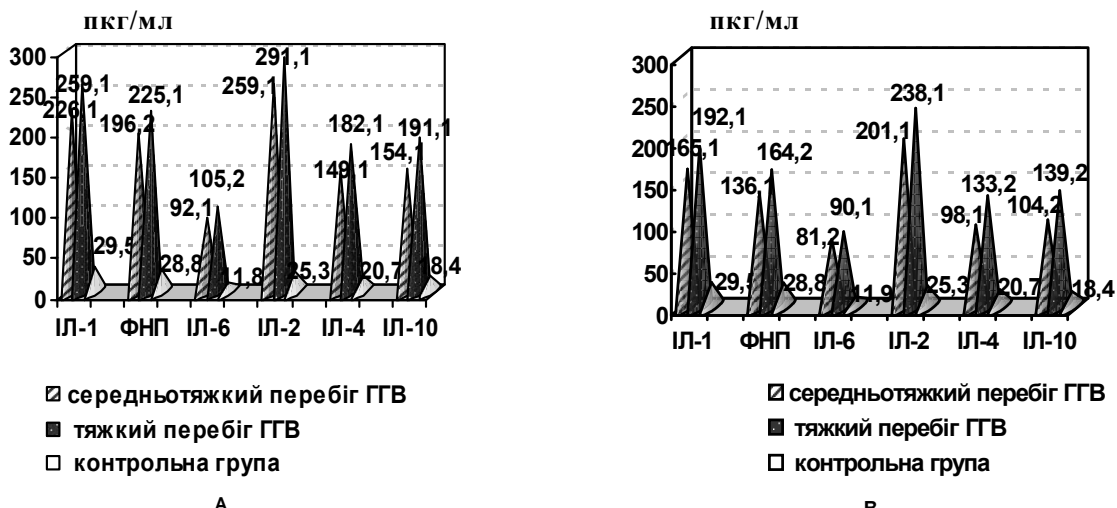


Рис. 3. Динаміка цитокінів у хворих на ГГВ із гіперреактивним типом імунологічного реагування у періодах розпаду (А) і реконвалесценції (В)

Аналізуючи динаміку цитокінового профілю у 54 хворих на ХГВ нами було

виявлено різноспрямовані зміни синтезу прозапальних та протизапальних цитокінів,

що дало підставу виділити два типи імунологічного реагування організму: I – дисоціативний (низькі показники прозапальних цитокінів та регуляторного ІЛ-2 на фоні помірних значень протизапальних цитокінів) та II – гіпореактивний (низькі концентрації як прозапальних, так і протизапальних цитокінів).

При загостренні ХГВ у хворих із дисоціативним типом імунного реагування (рис. 4А) спостерігалася низька продукція прозапальних цитокінів та регуляторного ІЛ-2, тоді як рівні протизапальних ІЛ-4 та ІЛ-10 вірогідно підвищувалися відповідно до активності процесу. Так, при мінімальній активності рівень ІЛ-4 перевищував у 5,7 разів, а ІЛ-10 – у 6 разів середні показники контрольної групи ( $p < 0,05$ ). У хворих з слабковираженою активністю рівень ІЛ-4 перевищував у 6,5, ІЛ-10 – у 7,5 разів контрольні показники ( $p < 0,05$ ). Показники ІЛ-1 $\beta$ , ФНП- $\alpha$ , ІЛ-6 та ІЛ-2 у хворих із дисоціативним типом реагування при

загостренні ХГВ також підвищувалися в середньому у 1,5-2 рази, дещо перевищуючи показники контрольної групи ( $p > 0,05$ ). У періоді ремісії ХГВ у хворих із дисоціативним типом імунного реагування (рис. 4В) відмічена тенденція до незначного зниження, відносно періоду загострення, як прозапальних ( $p > 0,05$ ), так і протизапальних цитокінів ( $p > 0,05$ ) і їх показники продовжували перевищувати відповідні рівні групи контролю.

Таким чином, при дисоціативному типі імунологічного реагування у хворих на ГГВ та ХГВ динаміка цитокінового профілю була різною: у пацієнтів на ГГВ було виявлено низькі концентрації регуляторного ІЛ-2, протизапальних ІЛ-4 та ІЛ-10 на фоні підвищених рівнів прозапальних цитокінів (ІЛ-1 $\beta$ , ФНП- $\alpha$  та ІЛ-6); у хворих на ХГВ встановлено низькі рівні прозапальних цитокінів та регуляторного ІЛ-2 на фоні підвищених показників протизапальних ІЛ-4 та ІЛ-10.

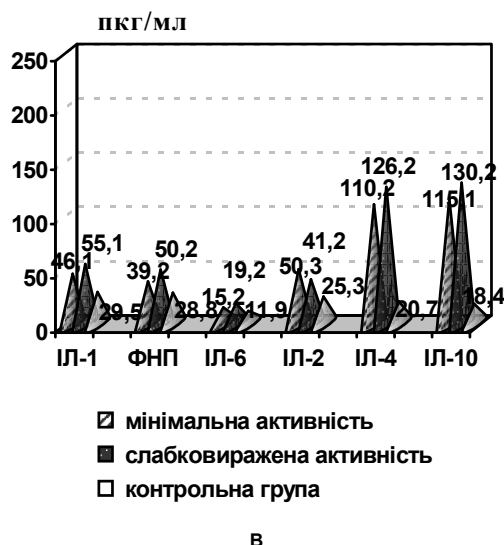
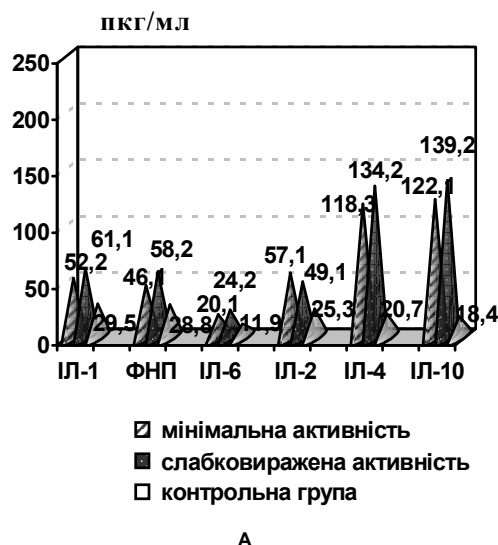


Рис. 4. Динаміка цитокінів у хворих на ХГВ із дисоціативним типом імунологічного реагування у періодах загострення (А) і ремісії (В)

У хворих на ГГВ як і у хворих на ХГВ із встановленим гіпореактивним типом імунологічного реагування синтез прозапальних та протизапальних цитокінів був низьким (рівні ІЛ-1 $\beta$  визначалися від 25,32 до 72,19 пкг/мл; ФНП- $\alpha$  – від 32,5 до 67,2 пкг/мл; ІЛ-6 – від 16,1 до 27,3 пкг/мл; ІЛ-2 – від 35,12 до 81,1 пкг/мл; ІЛ-4 – від 25,3 до 96,45 пкг/мл; ІЛ-10 – від 36,34 до 99,1 пкг/мл), показники коливались у межах значень контрольної групи і не відзначалися статистичною вірогідністю ( $p > 0,05$ ).

## ВИСНОВКИ

Отримані результати досліджень доводять доцільність на сучасному етапі комплексного імунологічного обстеження

хворих з HBV-інфекцією, що включає динамічне спостереження за синтезом регуляторних цитокінів, їх аналіз з встановленням типу імунологічного реагування організму, що зумовлено їх впливом на складні механізми імунопатогенезу хвороби.

При середньотяжкому та тяжкому перебігу ГГВ встановлено чотири типи імунологічного реагування: нормореактивний, дисоціативний, гіперреактивний та гіпореактивний, які знаходяться у взаємозв'язку із генетичною структурою вірусу, клінічними проявами і наслідками хвороби. Нормореактивний тип імунологічного реагування характеризується вірогідним підвищенням прозапальних

та протизапальних цитокінів, що корелює з ступенем тяжкості захворювання. При дисоціативному типі у хворих на ГГВ виявляється низький синтез ІЛ-2, ІЛ-4 та ІЛ-10 на фоні підвищеного вмісту прозапальних цитокінів (ІЛ-1 $\beta$ , ФНП- $\alpha$  і ІЛ-6). При гіперреактивному типі встановлено вірогідні високі показники всіх досліджуваних цитокінів, тоді як при гіпореактивному типі відмічено низький синтез прозапальних та протизапальних цитокінів, показники яких коливались у межах контрольних значень.

При мінімальній та слабковираженій активності ХГВ встановлено два типи імунологічного реагування: дисоціативний та гіпореактивний. У першому випадку

виявлено низькі рівні прозапальних цитокінів та регуляторного ІЛ-2 на фоні помірно підвищених концентрацій протизапальних цитокінів і синтез останніх корелював з активністю інфекційного процесу. У другому випадку показники всіх досліджуваних цитокінів були низькими і коливались в межах контрольних рівнів.

Враховуючи отримані результати перспективним напрямком дослідження є медикаментозна корекція гіпореактивного, гіперреактивного та дисоціативного типів імунного реагування задля профілактики можливої хронізації процесу у хворих на ГГВ та неблагоприємних наслідків захворювання при ХГВ.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Возианов А.Ф., Бутенко А.К., Зак К.П. Цитокины. Биологические и противоопухолевые свойства. - К.:Наукова думка, 1998. - С. 5-53.
2. Ройт А. Основы иммунологии (пер. с англ.). - М.:Мир, 1991. - 328с.
3. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. // Иммунология. - 2000. - № 1. - С. 61-64.
4. Царегородцева Т.М., Серова Т.И. Цитокины в гастроэнтерологии. -М.:Анахарсис, 2003. - С. 50.
5. Hollinger FB. et al. // Virology. Raven Press, New York. - 1990. - P. 2171-2236.
6. Milich D.R. // J.Viral Hepat. - 1997. - Vol. 4. - P. 25-30.

## ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО РЕАГИРОВАНИЯ ОРГАНИЗМУ ПРИ HBV-ИНФЕКЦИИ

*М.А. Тымкович<sup>1</sup>, В.П. Малый<sup>2</sup>, Т.В. Лядова<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Ужгородский национальный университет, Украина

<sup>2</sup>Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

<sup>3</sup>Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

## РЕЗЮМЕ

В результате проведенных иммунологических исследований изучено динамику синтеза провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у пациентов с острой и хронической HBV-инфекцией и на основании их анализа установлено типы иммунного реагирования организма при HBV: нормореактивный, диссоциативный, гипореактивный и гиперреактивный. Полученные результаты позволяют рекомендовать необходимость комплексного обследования больных с ОГВ и ХГВ с определением маркеров активной вирусной репликации (ДНК HBV) и уровня основных регуляторных цитокинов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** провоспалительные цитокины, противовоспалительные цитокины, типы иммунного реагирования

## PECULIARITIES OF THE IMMUNOLOGICAL BODY REACTION AT HBV-INFECTION

*M.A. Tymkovich<sup>1</sup>, V.P. Maliy<sup>2</sup>, T.I. Lyadova<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Uzhgorod national university, Ukraine

<sup>2</sup>Kharkov medical academy of postgraduate education, Ukraine

<sup>3</sup>V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

## SUMMARY

As a result of the conducted immunological researches the dynamics of the pro-inflammatory and contra-inflammatory cytokines synthesis in the patients with acute and chronic HBV infection was studied and on the basis of their analysis the types of immunological body reaction at HBV were established: normally reactive, dissociative, hyporeactive and hyperreactive. The got results allow to recommend the necessity of complex investigation of patients with acute viral hepatitis B with determination of markers of active viral replikation (DNA HBV) and level of principal regulators cytokine.

**KEY WORDS:** pro-inflammatory cytokines, contra-inflammatory cytokines, types of immunological reaction