

УДК: 616.36-002.12:612.017.1-092-577.112.85

РОЛЬ КОМПОНЕНТІВ ЕКСТРАЦЕЛЮЛЯРНОГО МАТРИКСА В ІМУНОПАТОГЕНЕЗІ HBV ТА HCV- ІНФЕКЦІЇ

Сана Ю. С., Хайкін П. Л., Гуржій Є. С.

Дніпропетровський національний університет,

Медична служба Управління Придніпровської залізниці, Дніпропетровськ

Ключові слова: екстрацелюлярний матрикс, фібронектин, вірусні гепатити, HBV-інфекція, HCV-інфекція, імунопатогенез.

Механізми патогенезу вірусних гепатитів сьогодні привертають увагу вчених, які працюють у багатьох галузях медицини і біології. Механізми імунної відповіді при вірусних гепатитах дотепер остаточно не з'ясовані, що створює певні труднощі в оцінці імунологічних порушень при діагностиці і прогнозуванні перебігу захворювання, призначенні імунотропної і противірусної терапії. Встановлено, що у розвитку імунологічних реакцій при гепатитах беруть участь компоненти екстрацелюлярного матрикса (ЕЦМ), зокрема фібронектини (ФН).

Фібронектини — глікопротеїнові димери з молекулярною вагою близько 440 кД, представлені, головним чином, трьома структурними одиницями функціональних модулів — Fn1, Fn2, Fn3. Визначають тканинні (тФН) і плазмовий (пФН) фібронектини. Відрізняються вони біохімічно, імунологічно і функціонально [14]. Відомо, що пФН синтезується гепатоцитами.

Останніми роками ФН розглядається як діагностичний і прогностичний критерій при різноманітних захворюваннях. За даними вітчизняних авторів [1], підвищення вмісту пФН визначається при імунокомплексних захворюваннях, а зниження — при імунодефіцитах.

Значення ФН у патогенезі вірусних гепатитів та інших захворювань печінки розглядалося багатьма авторами [4, 6, 11, 12], однак дані, отримані ними, часто є суперечливими.

Метою нашого дослідження є визначення ролі ФН в імунопатогенезі HBV та HCV-інфекції для можливого подальшого використання їх як діагностичних маркерів.

Матеріали та методи досліджень

Обстежено 35 хворих на вірусні гепатити віком від 17 до 46 років: серед них 20 хворих на HBV-інфекцію (8 чоловіків та 12 жінок), 15 хворих на HCV-інфекцію (7 чоловіків та 8 жінок) та 15 умовно здорових осіб (8 чоловіків та 7 жінок) — група №3.

Діагноз HBV-інфекції ґрунтувався на клінічних даних, результатах біохімічних досліджень та виявленні HBsAg та анти-HBc класу IgM. Діагноз HCV-інфекції базувався на клініко-біохімічній картині та виявленні анти-HCV та у деяких хворих HCV RNA (методом PCR).

Рівень пФН визначався методом твердофазного імуноферментного аналізу, із застосуванням тестових систем НВО «Иммунотех», Росія (норма для дорослих 323 ± 76 мкг/мл). Вміст циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) визначався стандартним методом імунопреципітації з 3-відсотковим поліетиленгліколем 6000 (норма для дорослих $1 \pm 0,2$ мг/мл). Виділення ЦІК із плазми робили за допомогою афінної хроматографії з використанням Protein-A сефарози (Sigma, США). Для дослідження складу ЦІК використовували диск-електрофорез. Наявність та ступінь деградації ФН у складі ЦІК були визначені методом Western blot з кролячими антитілами до фібронектину (ДАКО, Данія).

Статистична обробка результатів проводилася за допомогою прикладних програм набору Microsoft Excel та методів варіаційної статистики (критерій Стьюдента, кореляція Пірсона) на ПЕОМ Intel Pentium II.

Результати та їх обговорення

Було визначено, що у хворих на HBV-інфекцію середній рівень пФН становив $(399,93 \pm 43)$ мкг/мл і майже у два рази ($P < 0,05$) перевищував контрольний показник, який становив $(245,15 \pm 36,8)$ мкг/мл. У групі хворих на HCV-інфекцію рівень пФН становив $(217,08 \pm 33,6)$ мкг/мл й істотно не відрізнявся від показника у контрольній групі.

Концентрація пФН при HBV-інфекції в цілому була вищою, ніж у здорових осіб та при HCV-інфекції. Тільки в одному випадку спостерігалися дуже низькі значення рівня пФН у хворого на фульмінантну форму HBV-інфекції ($129,3$ мкг/мл), що, можливо, пов'язане з різким зниженням білково-синтетичної функції печінки.

Встановлено, що вміст ЦІК у крові хворих становив при HBV-інфекції ($2,37 \pm 0,6$) мг/мл, при HCV-інфекції ($1,2 \pm 0,4$) мг/мл та у групі контролю ($1,42 \pm 0,2$) мг/мл. Отже, у хворих на HBV-інфекцію вміст ЦІК перевищував середній рівень як у контрольній ($P < 0,05$), так і в групі хворих на HCV-інфекцію ($P < 0,05$).

Позитивна кореляція визначена між рівнями пФН та ЦІК у хворих на HBV-інфекцію ($R = 0,74$, $P < 0,05$). Водночас при HCV-інфекції та у контрольній групі такої залежності немає.

ФН було виявлено у складі ЦІК тільки у крові 26,7% хворих на HCV-інфекцію, у решти 11 хворих ЦІК не містили у своєму складі ФН. У хворих на HBV-інфекцію, навпаки, у 90,0% випадків у крові хворих виділено ЦІК, які містили у своєму складі зв'язаний ФН. При цьому практично в усіх обстежених групі контролю (93,3%) ФН було виділено у зв'язаному з імуноглобулінами стані у складі ЦІК.

Було проведено аналіз якісного стану ФН у складі ЦІК, зокрема ступеня його деградації. Слід відзначити, що при HCV-інфекції жодного разу, коли ФН було виявлено у складі ЦІК, не спостерігалось деградації ФН. Такі ж результати отримано під час аналізу ступеня деградації зв'язаного ФН в осіб з контрольної групи. Навпаки, при HBV-інфекції у хворих, у крові яких ЦІК містили у своєму складі ФН, у 12 з 18 випадків спостерігалась деградація зв'язаного ФН.

Отримані нами результати збігаються з даними C.Gluud et al. [8], які відзначили підвищення концентрації пФН при неускладнених гострих вірусних гепатитах А і В. За даними A.Grieco et al. [9], за розвитку гострого гепатиту також відзначалось підвищення концентрації пФН. Однак K.Simon et al. [13] відзначають, що в разі гострих вірусних гепатитів рівень пФН не відрізняється від контрольного. А дані, отримані вітчизняними авторами [3], свідчать про зниження рівня пФН при гострих вірусних гепатитах. За даними Л.Ч. Самерханова та співавт. [2], у гострому періоді гепатиту А спостерігається зниження концентрації пФН пропорційно до ступеня тяжкості захворювання, а в періоді одужання відзначається її збільшення. У разі гепатиту В аналогічні зміни виявляються меншою мірою.

За розвитку фульмінантної форми вірусного гепатиту спостерігалось значне зниження рівня пФН, що узгоджується з даними літератури. Приміром, за даними M. Irshad et al. [10], у хворих із фульмінантним перебігом гепатиту, а саме при розвитку печінкової недостатності, відзначається значне зниження рівня пФН порівняно з контрольним.

Отримані нами дані свідчать про зв'язок між рівнем пФН та етіологією гепатиту: у хворих на HBV-інфекцію середня концентрація пФН була вірогід-

но вища, ніж у хворих на HCV-інфекцію. Аналогічні дані майже не зустрічаються у літературі. Тільки в роботі M. Abdel-Rahman et al. [5] відзначено підвищення рівня пФН при розвитку хронічного гепатиту С порівняно з таким при хронічному гепатиті В. Наявність зв'язку між рівнем пФН і етіологією процесу наведена також у роботі A. Budkowska et al. [7], а саме — участь ФН у зв'язуванні вірусу гепатиту В in vivo завдяки взаємодії з епітопами, інформацію про які несе pre-S2 регіон ДНК вірусу.

Дослідження значення пФН у формуванні імунної відповіді при вірусних гепатитах вкрай обмежені. Тільки в одній роботі виявлено роль ФН в імунних реакціях і одночасно досліджено його концентрацію у крові хворих на печінкову недостатність та концентрації інших показників імунної відповіді (С3 фактор комплементу, V фактор протердину і продукти його деградації) [10].

Нами вперше виявлено наявність ФН у складі ЦІК при вірусних гепатитах та проведено його якісний аналіз. У хворих на HBV-інфекцію ФН майже в усіх випадках було виділено у зв'язаному з імуноглобулінами стані у складі ЦІК. Аналогічні результати отримано у контрольній групі. При HCV-інфекції, навпаки, ФН було виявлено у складі ЦІК у крові тільки чверті хворих. Щодо аналізу якісних характеристик ФН, при HBV-інфекції більш як у половині випадків спостерігалась деградація зв'язаного ФН. Навпаки, як при HCV-інфекції, так і в контрольній групі, у жодному разі не було відзначено деградації ФН у складі ЦІК.

Висновки

Таким чином, отримані нами результати свідчать про те, що ФН бере участь в імунопатогенезі вірусних гепатитів, зокрема HBV-інфекції, як універсальний опсонін і модулятор імунної відповіді. Можна вважати, що він безпосередньо бере участь в утворенні й елімінації ЦІК. При цьому, як це видно з наших даних, істотно змінюються і кількісні, і якісні структурні характеристики ФН. Підвищення синтезу ФН при HBV-інфекції може, на нашу думку, носити компенсаторний характер у відповідь на підвищене використання його на периферії. Одним із механізмів такого використання ФН є участь його в утворенні та елімінації ЦІК за рахунок зв'язування з імуноглобулінами. Проведений аналіз встановив, що ФН при HBV-інфекції у більшості випадків входить до складу ЦІК, але часто у вигляді продуктів деградації, що може свідчити про зміни функціональних властивостей ФН. Зазначений вище механізм, імовірно, зумовлює особливості імунної відповіді і надалі може дати нові ключі до розуміння імунопатогенезу даного захворювання, а отже, і до розробки нових підходів до терапії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Васильева Е. В., Мазнева Л. М., Голованова О. Е. Фибронектин в норме и при патологии (обзор) // Терапевт. арх.— 1991.— Т. 63, № 12.—С.130—133.

2. Самерханова Л. Ч., Волощук О. М. Изменение уровня фибронектина крови больных вирусным гепатитом А и В // Казан. мед. журн.— 1987.— Т. 68, № 3. — С. 178—182.

3. Фибронектин при острых и хронических гепатитах / Л. Т. Малая, О. Я. Бабак, Н. И. Яблучанский, Е. Л. Шаров // Клинич. медицина. — 1990.— Т. 68, № 11. —С. 37—39.

4. Шиманко И. И., Назаренко А. А., Османов С. К. Оценка клинической значимости определения уровня плазменного фибронектина при острых токсических поражениях печени // Вестн. АМН СССР.— 1990. — № 3. — С. 37—39.

5. Abdel Rahman M. M., el Nasr M. S., Mahmoud S. A. Plasma fibronectin and serum complement C3 levels in chronic active hepatitis following virus B versus virus C infection // J. Egypt. Soc. Parasitol. — 1993. — Vol. 23, № 2. — P. 579—589.

6. Ament P. S., Harisson D. Expression and potential role of the extracellular matrix in hepatic ontogenesis: a review // Microscopy Res. and Technique. — 1997. — Vol. 39, № 4. —P. 372—386.

7. Budkowska A., Bedossa P., Groh F. Fibronectin of human liver sinusoids binds hepatitis B virus: identification by an anti-idiotypic antibody bearing the internal image of the pre-S2

domain // J. Virol. — 1995. — Vol. 69, № 2. —P. 840—848.

8. Gluud C., Dejgaard A., Clemmensen I. Plasma fibronectin concentrations in patients with liver diseases // Scand. J. Clin. Lab. Invest. — 1993. — Vol. 43, № 36. — P. 533—537.

9. Plasma levels of fibronectin in patients with chronic viral and alcoholic liver disease / Grieco A., Matera A., Di Rocco P., Marcocchia S. // Hepatogastroenterology. — 1998. — Vol. 45, № 23. — P. 1731—1736.

10. Role of fibronectin and complement in immunopathogenesis of acute and subacute hepatic failure/ Irshad M., Acharya S. K., Joshi Y. K., Tandon B. N. // J. Gastroenterol. Hepatol. — 1994. — Vol. 9, № 4. — P. 355—360.

11. Oyama F., Hirohashi S., Sakamoto M. Coordinate onco-developmental modulation of alternative splicing of fibronectin pre-messenger RNA at ED-A, ED-B, and CS1 regions in human liver tumors // Cancer-Res. — 1993. — Vol. 53, № 9. — P. 2005—2011.

12. Oyama F., Hirohashi S., Sakamoto M. Deregulation of alternative splicing of fibronectin pre-mRNA in malignant human liver tumors // J. Biol. Chem. — 1989. — Vol. 264, № 18. — P. 10331—10334.

13. Simon K., Zalewska M., Gladysz A. Plasma fibronectin in chronic liver disease—marker of fibrosis // Przegł. Lek. — 1995. — Vol. 52, № 4. — P. 129—132.

14. Stamm C., Sarret Y. Fibronectins // Path. Biol. —1992. — Vol. 40, № 6. — P. 649—654.

РОЛЬ КОМПОНЕНТОВ ЕКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНОГО МАТРИКСА В ИММУНОПАТОГЕНЕЗЕ HBV И HCV-ИНФЕКЦІЙ

Сапа Ю. С., Хайкин П. Л., Гуржий Е. С.

Обследовано 35 больных вирусными гепатитами (20 больных с HBV инфекцией и 15 больных с HCV-инфекцией). Изучена концентрация фибронектина плазмы крови, наличие его в составе циркулирующих иммунных комплексов и степень его деградации. Установлено, что концентрация фибронектина плазмы при HBV-инфекции выше, чем у здоровых лиц и при HCV-инфекции. Показано, что в крови только у 4 из 15 больных с HCV-инфекцией фибронектин был выявлен в составе иммунных комплексов, а у больных с HBV-инфекцией, наоборот — в 18 из 20 случаев. При HCV-инфекции ни в одном случае не наблюдалась деградация связанного в иммунных комплексах фибронектина, при HBV-инфекции в 12 из 18 случаев наблюдалась деградация связанного фибронектина.

THE ROLE OF EXTRACELLULAR MATRIX COMPONENTS IN HBV AND HCV — INFECTION IMMUNE PATHOGENESIS

Y. S. Sapa, P. L. Khaykin, E. S. Gurgiy

35 patients with viral hepatitis (20 with HBV infection and 15 with HCV infection) were examined. The fibronectin plasma concentration, presence of fibronectin in circulating immune complexes and its degradation were studied. It was established, that fibronectin plasma concentration in HBV infection was higher, than in HCV infection. It was established, that in a blood only in 4 of 15 patients with HCV infection fibronectin was detected in a structure of immune complexes, in patients with HBV infection, to the contrary in 18 of 20 cases. In HCV-infection no cases of fibronectin degradation in immune complexes were detected, in HBV-infection in 12 of 18 cases the degradation of combined fibronectin was determined.