

ХЕМОКИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ И ИХ ЛИГАНДЫ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С И ОТЯГОЩЕННЫМ КОМОРБИДНЫМ ФОНОМ**В.В.Басина, Н.А.Арсентьева*, К.Е.Новак, А.А.Тоголян*****CHEMOKINE RECEPTORS AND THEIR LIGANDS IN PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C AND AGGRAVATED COMORBID BACKGROUND****V.V.Basina, N.A.Arsent'eva*, K.E.Novak, A.A.Totolyan***

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, v.basins@mail.ru
**Санкт-Петербургский научно исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера*

Цель данной работы — изучение хемокиновых рецепторов CXCR3+ и CCR6+ и их лигандов в периферической крови пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС), имеющих неблагоприятный коморбидный фон. В исследование включено 700 пациентов с ХГС, наблюдаемых в период с 2013 по 2019 гг. в клинической инфекционной больнице им. С.П.Боткина (Санкт-Петербург). Иммунологические особенности изучены у 79 больных с ХГС. Были выявлены концентрации цитокинов/хемокинов TNF α , IFN γ , CCL20/MIP-3 α , CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL11/ITAC в плазме крови методом мультиплексного анализа. У 61 пациента определены субпопуляции лимфоцитов: Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, NK-клеток, NKT-клеток, и экспрессия этими клетками хемокиновых рецепторов CCR6 и CXCR3 методом проточной цитометрии. Пациенты были разделены на группы с наличием коморбидности и без нее, а также по неинфекционным патологиям внутри группы с коморбидностью. Коморбидность присутствовала у 63% пациентов с ХГС, среди которых мультиморбидность встречалась в 79,4%. Наиболее частыми сопутствующими патологиями были заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и поджелудочной железы (ПЖ) — 49% случаев, болезни органов кровообращения — 15,4% и патология органов эндокринной системы и обмена веществ — 13,9%. В группе пациентов с коморбидностью определены концентрации хемокинов CXCL9/MIG и CCL20/MIP3- α , которые в 2 и 1,6 раз превышали таковые в группе без сопутствующих заболеваний ($p = 0,017$). Угнетение клеток цитотоксического звена иммунитета было более выражено в группе пациентов с отягощенным коморбидным фоном. Так, содержание Th CCR6+, CTL, CTL CCR6+, NK CCR6+, NK CXCR3+, NKT CCR6+ и NK CXCR3+ у пациентов с сопутствующими заболеваниями были в 1,6; 2; 1,6; 1,8; 1,6; 2,7 и 1,7 раз меньше, чем в группе без них. В результате исследования больше чем у 63% пациентов с ХГС выявлено наличие различного коморбидного фона. Цитокиновый профиль показал высокие концентрации хемокинов CCL20/MIP-3 α и CXCL9/MIG в группе пациентов с сопутствующей патологией в сравнении с пациентами без нее и преобладание концентрации хемокина CCL20/MIP-3 α у больных с эндокринной патологией, в том числе с сахарным диабетом (СД) 1 и 2 типа. Также было выявлено более выраженное угнетение врожденного и адаптивного клеточного звена иммунитета, обладающего цитотоксической активностью, у пациентов с сопутствующей патологией.

Ключевые слова: хронический гепатит С, коморбидный фон, иммунопатогенез, цитокины/хемокины, экспрессия CCR6+, CXCR3+

Для цитирования: Басина В.В., Арсентьева Н.А., Новак К.Е., Тоголян А.А. Хемокиновые рецепторы и их лиганды в периферической крови пациентов с хроническим гепатитом С и отягощенным коморбидным фоном // Вестник НовГУ. Сер.: Медицинские науки. 2022. №1(126). С.15-24. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.1\(126\).15-24](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.1(126).15-24)

The objective of this work which is the study of the immunopathogenesis of chronic hepatitis C (CHC) in patients with an unfavorable comorbid background is currently a topical area of research in connection with the search for the best tactics for managing and treating patients. The study involved 700 patients with CHC, observed in the period from 2013 to 2019 in Botkin hospital (St. Petersburg). Immunological features were studied in 79 patients with CHC. The concentrations of cytokines/chemokines: TNF α , IFN γ , CCL20/MIP-3 α , CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL11/ITAC in blood plasma were determined by multiplex analysis. In 61 patients, subpopulations of lymphocytes were determined: T-helpers, cytotoxic T-lymphocytes, B-lymphocytes, NK-cells, NKT-cells, and the expression of chemokine receptors CCR6 and CXCR3 on these cells by flow cytometry. The patients were divided into two groups with and without comorbidity, as well as non-infectious pathologies within the comorbidity group. Comorbidity was present in 63% of patients with CHC, among whom multimorbidity was found in 79.4%. The most frequent comorbidities were the following: diseases of the gastrointestinal tract and pancreas — 49% of cases; diseases of the circulatory system — 15.4%; and pathology of the endocrine system and metabolism — 13.9%. In the group of patients with comorbidity, the concentrations of the chemokines CXCL9/MIG and CCL20/MIP3- α were determined, which were 2 and 1.6 times higher than those in the group without comorbidity ($p = 0.017$). The suppression of the cells of the cytotoxic component of the immune system was more pronounced in the group of patients with aggravated comorbid background. Thus, the content of Th CCR6+, CTL, CTL CCR6+, NK CCR6+, NK CXCR3+, NKT CCR6+ and NK CXCR3+ in patients with comorbidities were 1.6; 2; 1.6; 1.8; 1.6; 2.7 and 1.7 times less than in the group without them. As a result of the study, more than half of the patients with CHC revealed the presence of various comorbid backgrounds. The cytokine profile showed

high concentrations of CCL20/MIP-3 α and CXCL9/MIG chemokines in the group of patients with comorbidity in comparison with patients without it, and the predominance of the CCL20/MIP-3 α chemokine concentration in patients with endocrine pathology, including type 1 and type 2 diabetes. Also, a more pronounced suppression of the innate and adaptive cellular component of immunity with cytotoxic activity was revealed in patients with comorbidity.

Keywords: *chronic hepatitis C, comorbid background, immunopathogenesis, cytokines/ chemokines, expression of CCR6+, CXCR3+*

For citation: *Basina V.V., Arsent'eva N.A., Novak K.E., Totolyan A.A. Chemokine receptors and their ligands in peripheral blood of patients with chronic hepatitis C and aggravated comorbid background // Vestnik NovSU. Issue: Medical Sciences. 2022. №1(126). P. 15-24. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.1\(126\).15-24](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.1(126).15-24)*

Актуальной задачей здравоохранения Российской Федерации является снижение заболеваемости ХГС [1,2]. К сожалению, данная инфекция не управляема методами специфической профилактики и достигнуть ее ликвидации можно лишь благодаря проведению этиотропной терапии (противовирусной терапии ПВТ), которая является мерой, ведущей к сокращению источников ВГС. В настоящее время подходы к этиотропной терапии ХГС сильно изменились, возросла ее эффективность с появлением препаратов прямого противовирусного действия (ПППД) до 85-96%. Однако часть пациентов, не достигших в ходе ПВТ ПППД устойчивого вирусологического ответа (УВО), имеет выраженную стадию фиброза печени и различный коморбидный фон. Изучение иммунопатогенеза коморбидных состояний у пациентов с ХГС, их взаимное влияние является целью научных исследований, направленных на эрадикацию ВГС.

Повреждение тканей печени при ХГС происходит как вследствие цитопатического действия вируса на гепатоциты, так и в результате реализации иммунного ответа организма человека. В большинстве случаев ни ранний врожденный, ни последующий адаптивный иммунный ответ неспособны избавить организм от вируса, и инфекция становится хронической. Хемокины — это молекулы, относящиеся к суперсемейству небольших катионных белков, которые способствуют миграции лейкоцитов в очаг воспаления и регулируют иммунный ответ при вирусных инфекциях, включая и вирус гепатита С. Они имеют решающее значение при эрадикации вируса, но сохранение их повышенной экспрессии при ХГС может вызвать повреждение тканей и воспаление [3]. При патологии печени повышенная секреция хемокинов CCL20/MIP-3 α , CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL11/ITAC, секретируемых инфицированными гепатоцитами, эпителиальными и купферовскими клетками, преимущественно связана с ответом Т-хелперных клеток, цитотоксических лимфоцитов (CTL), NK-клеток, экспрессирующих на своей поверхности рецепторы CCR6 и CXCR3 [4,5]. Блокировка и изменение экспрессии хемокиновых рецепторов и секреции хемокинов может быть механизмом ускользания вируса, позволяющим избежать миграции специфических Т-клеток в печень. Наличие коморбидной патологии у пациентов с ХГС приводит к увеличению секреции цитокинов и хемокинов. Это ведет к активации цитотоксического клеточного иммунитета и, как следствие, — к повреж-

дению тканей печени, что заставляет задуматься о возможности регулировать содержание хемокинов и их рецепторов с помощью медикаментозной терапии [6]. В этой связи изучение иммунологических показателей у пациентов с ХГС и наличием сопутствующей патологии является актуальным на данный момент.

Цель исследования: изучение хемокиновых рецепторов CXCR3+ и CCR6+ и их лигандов в периферической крови пациентов с хроническим гепатитом С, имеющих неблагоприятный коморбидный фон.

Материалы и методы

В исследование включено 700 пациентов с ХГС, наблюдаемых в период с 2013 по 2019 гг. в Клинической инфекционной больнице им. С.П.Боткина (Санкт-Петербург). Диагноз ХГС установлен на основании данных клинико-лабораторных и инструментальных методов обследования, в том числе исследования сыворотки крови на маркеры гепатита В и С методом ИФА с определением фазы инфекционного процесса (ПЦР — качественно, количественно, генотипирование). Сопутствующие заболевания устанавливались на основании представленной медицинской документации, данных клинико-лабораторного обследования и консультативного осмотра врача-специалиста.

Иммунологические особенности изучены у 79 больных с ХГС. Были определены концентрации цитокинов/хемокинов TNF α , IFN γ , CCL20/MIP-3 α , CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL11/ITAC в плазме крови методом мультиплексного анализа по технологии xMAP («Luminex») с использованием коммерческих тест-систем «Milliplex MAP» («Millipore») (США), основанных на магнитных микросферах «Milliplex Mag» (США), согласно инструкциям производителя. Регистрацию и анализ данных проводили на приборе «Luminex MAGPIX» (США). У 61 пациента определены субпопуляции лимфоцитов: Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, NK-клеток, NKT-клеток и экспрессия этими клетками хемокиновых рецепторов CCR6 и CXCR3 методом проточной цитометрии. Пациенты были разделены на две группы: I группа (39 человек) — пациенты с наличием сопутствующей патологии, II группа (40 человек) — пациенты с отсутствием сопутствующей патологии. Общая характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в табл.1.

Общая характеристика пациентов

Показатель	Пациенты с ХГС	Пациенты с ХГС с наличием иммунологической характеристики		
		с коморбидным фоном	без коморбидного фона	
Число пациентов	700	40	39	
Пол пациентов, м:ж	1:1,5	1,1:1	1,6:1	
Средний возраст пациентов, лет	46,3±12,8	48,7±8,6	46,5±9,44	
Уровень билирубина, мкмоль/л	18,5±10,3	18,6±13,5	17,2±11,8	
Активность АлАТ, МЕ/л	97,8±18,4	101±41,7	68,8±35,1	
Активность АсАТ, МЕ/л	102,6±21,8	84,4±29,7	59,79±31,4	
Медиана вирусной нагрузки, МЕ/л	5,3×10 ⁶ (1,8×10 ⁵ /6,2×10 ⁷)	4,6×10 ⁵ (2,8×10 ⁵ /1,7×10 ⁶)	4,9×10 ⁶ (3,3×10 ⁶ /2,0×10 ⁷)	
Генотип HCV, абс.	1b	361	36	29
	1a	30	1	1
	3a	241	2	8
	2	63	—	—
Смешанный, абс.	(1b+1a; 3a+2; 1b+3a)	5	1	1
Стадия фиброза (по METAVIR), абс.	F0	241	9	16
	F1	154	6	12
	F2	112	8	7
	F3	74	8	1
	F4	119	9	3

Пациенты I группы (с наличием сопутствующей патологии) были также разделены на три группы сравнения: А — с заболеваниями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и поджелудочной железы (ПЖ); В — с патологией сердечно-сосудистой системы (ССС) и С — с эндокринными заболеваниями. Иммунологические показатели были сопоставлены с показателями группы условно здоровых лиц ($n = 37$), соизмеримых по возрасту и полу с исследуемой группой, у которых отсутствовали любые клинико-лабораторные симптомы поражения печени, соматические и другие инфекционные заболевания.

Для статистической обработки был использован пакет программ R, а для анализа данных сравнения групп — U-тест Манна—Уитни и Краскела—Уоллеса с уровнем значимости $p < 0,05$.

Исследование было одобрено комитетом по этике Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета. Все пациенты дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Результаты и обсуждение

Под наблюдением находились 700 пациентов с диагнозом ХГС в возрасте от 19 до 96 лет (средний возраст 46,3 ± 12,8 лет), 280 (40%) мужчин и 420 (60%) женщин. Наиболее часто выявляемыми генотипами были: 1b в 51,5% случаев и 3a в 34,4%. У всех пациентов выявлена репликативная активность ВГС в плазме крови, медианные значения вирусной нагрузки (ВН) составили 5,3×10⁶(1,8×10⁵/6,2×10⁷). В ходе анализа биохимических показателей оказалось, что средние значения билирубина были в пределах нормы, а показатели цитолитической активности умеренно выражены (АлАТ — 97,8±18,4; АсАТ — 102,6±21,8). Коморбидность в нашем исследовании

была определена у 63% пациентов с ХГС. Однако в ряде научных наблюдений отмечается более высокая распространенность как коморбидности, так и мультиморбидности у пациентов с ХГС в сравнении с общей популяцией [7-9]. Существует много сообщений о более высокой летальности среди пациентов с ХГС при наличии различной сопутствующей патологии [10-12].

Имела место положительная корреляция между возрастом и наличием одного или более одного сопутствующего заболевания ($p = 0,007$), а также между длительностью течения ХГС и наличием коморбидного фона ($p = 0,05$).

Наиболее часто встречающимися сопутствующими патологиями были: заболевания ЖКТ и ПЖ — 49% случаев, болезни сердечно-сосудистой системы (ССС) — 15,4% и патология органов эндокринной системы и обмена веществ — 13,9% (рис. 1).

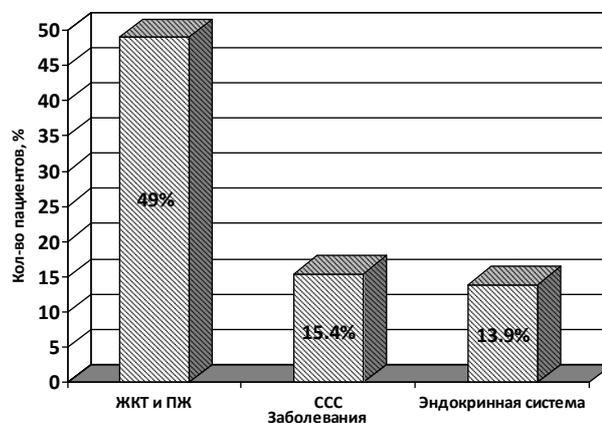


Рис.1. Часто выявляемые сопутствующие заболевания у больных хроническим гепатитом С

Сравнительная характеристика концентраций цитокинов и хемокинов в плазме периферической крови у пациентов с ХГС с отягощенным коморбидным фоном и без него

Цитокины/Хемокины	Концентрация в плазме крови, пг/мл				P(M-W)
	ХГС с коморбидностью		ХГС без коморбидности		
	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	
TNF α	12,2 (n = 40)	8,2-17,1	13,1 (n = 39)	7,8-16,7	0,79
IFN- γ	3,8 (n = 40)	2,3-6,2	3,4 (n = 39)	3,2-10,9	0,37
CCL20/MIP-3 α	28,9 (n = 40)	17,1-38,2	18,2 (n = 39)	11,4-30,9	0,007
CXCL9/MIG	2208,98 (n = 40)	1060,7-4084,9	1101,79 (n = 39)	698,6-2065,9	0,016
CXCL10/IP-10	1812,8 (n = 40)	1643,7-3440,0	1687,0 (n = 39)	1675,9-4219,3	0,63
CXCL11/ITAC	235,4 (n = 40)	127,1-554,9	224,5 (n = 39)	156,9-393,7	0,51

* достоверность изменения этих показателей, рассчитанная по трем временным точкам методом Манна—Уитни.

Среди пациентов с ХГС, имеющих сопутствующие заболевания, 79,4% обладали двумя и более патологиями. Наиболее часто были выявлены заболевания ССС и эндокринные заболевания — 64%, заболевания ЖКТ и ПЖ и ССС — 37%.

ХГС является фактором риска развития заболеваний ССС, так как ВГС активирует системное воспаление и оксидантный стресс, что обуславливает развитие атеросклеротических изменений [13]. Результаты исследований ряда авторов предполагают потенциальную связь между ХГС и риском развития субклинических и клинических форм заболеваний ССС [14,15].

В наше время актуальными являются вопросы о сложных иммунологических механизмах взаимодействия между ХГС и различными неинфекционными хроническими заболеваниями для оптимизации тактики лечения пациентов [16, 17].

В ходе проведения сравнения концентраций цитокинов/хемокинов у пациентов с ХГС в группах с сопутствующим коморбидным фоном и без него были выявлены различия по нескольким показателям, которые представлены в табл.2.

В ходе данного исследования разница концентраций TNF- α и IFN- γ в группах пациентов с коморбидностью при ХГС и ее отсутствием не была выявлена. Однако по данным литературных источников была зафиксирована корреляционная связь между TNF- α , CXCL10/IP-10 и инсулинорезистентностью при ХГС [18], а в сообщении Chao-Hung Hung и соавторов говорится о связи TNF- α и IL-6 с инсулинорезистентностью [19]. Существуют научные данные о роли в формировании СД 2 типа при ХГС комплекса воспалительных цитокинов: IL-1 β , IL-6, IL-18, CRP, TNF- α , которые могут быть определены в прогностические факторы СД 2 типа [20].

При сравнении групп пациентов с наличием сопутствующей патологии и без нее были обнаружены достоверно значимые различия между концентрацией хемокина CXCL9/MIG ($p = 0,017$) (рис.2) и хемокина CCL20/MIP-3 α ($p = 0,0074$) (рис.3). В I группе медианные значения для хемокина CXCL9/MIG составили 2208,98 пг/мл (1060,66; 4084,87), что в 2 раза превышало показатели во II группе, составляющие

1101,79 пг/мл (698,58; 2065,92). А также превышали медианы в группе здоровых доноров в 4,9 раз и в 2,5 раз для I и II группы соответственно.

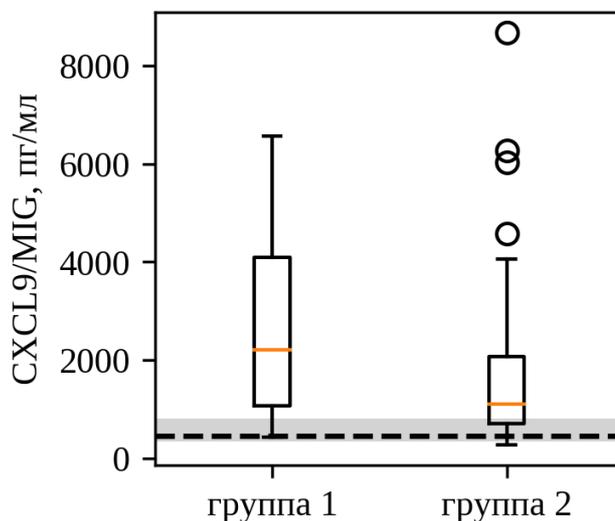


Рис.2. Сравнение концентраций хемокина CXCL9/MIG в группах пациентов с ХГС, отягощенных коморбидностью и нет

Одним из часто обсуждаемых коморбидных заболеваний является СД как 1, так и 2 типов и иммунопатогенез взаимодействия ХГС и СД. Результаты нашего исследования совпадают с результатами работ зарубежных авторов. Так, имеются сообщения о том, что именно хемокин CXCL9/MIG играет решающую роль в деструкции β -клеток ткани поджелудочной железы у пациентов, страдающих СД как 1, так и 2 типов, и участвует в иммунопатогенезе аутоиммунных заболеваний организма [21]. В сообщении Gonnella хемокин CXCL9/MIG предложен на роль прогностического маркера развития СД 1 типа у пациентов с ХГС, а также рассматриваются такие потенциальные подходы к терапии СД 1 типа, как блокировка экспрессии CXCL9/MIG в начале заболевания.

В нашем исследовании не было обнаружено достоверных различий концентрации хемокина CXCL10/IP-10 у пациентов с наличием сопутствующей

щей патологии при ХГС и с ее отсутствием. Но в литературных источниках имеются сообщения о том, что один из лигандов CXCR3+ рецептора — хемокин CXCL10/IP-10, индуцируемый интерфероном- γ , играет важную роль в развитии ХГС и аутоиммунных заболеваний. В ходе течения ХГС у пациентов с СД 1 типа наблюдалось увеличение концентраций CXCL10/IP-10, которое в свою очередь вызывает недостаточность продуцирующих инсулин клеток. Рассматривается возможность подавления синтеза хемокина CXCL10/IP-10 при впервые возникшем СД 1 типа у пациентов с ХГС как один из подходов к терапии СД [22,23]. А в статье A Corrado [24] и соавторов помимо сведений о том, что CXCL10/IP-10 провоцирует разрушение β -клеток поджелудочной железы при СД 1 типа, высказывается предположение, что он может быть предложен в качестве кандидата на роль прогностического маркера СД 1 типа. Также имеются сведения о роли хемокина CXCL10/IP-10 в развитии псориаза у пациентов с ХГС. Лимфоциты, экспрессирующие CXCR3+ рецепторы хемокинов, и хемокин CXCL10/IP-10 были обнаружены в кератиноцитах и дермальном инфильтрате в активных псориотических бляшках, а при успешном лечении псориаза снижалась экспрессия CXCL10/IP-10 [25]. Наиболее широко были изучены концентрации цитокинов/хемокинов у больных ХГС при наличии различных сопутствующих заболеваний в статье [26], где было показано значение хемокина CXCL10/IP-10 и лимфоцитов с CXCR3+ рецептором в иммунопатогенезе при развитии таких коморбидных патологий, как СД 1 типа, аутоиммунный тиреоидит, болезнь Грейвса, ревматоидный артрит, псориаз, системная красная волчанка (СКВ), смешанная криоглобулинемия, синдром Шегрена.

В исследовании обнаружено, что в I группе медианные значения для хемокина CCL20/MIP-3 α достигали 28,9 пк/мл (17,16; 38,17), что в 1,6 раз превышало показатели во II группе, составляющие 18,2 пк/мл (11,37; 30,95). А также превышали медианы в

группе здоровых доноров в 2,2 раз и в 1,4 раз для I и II группы соответственно.

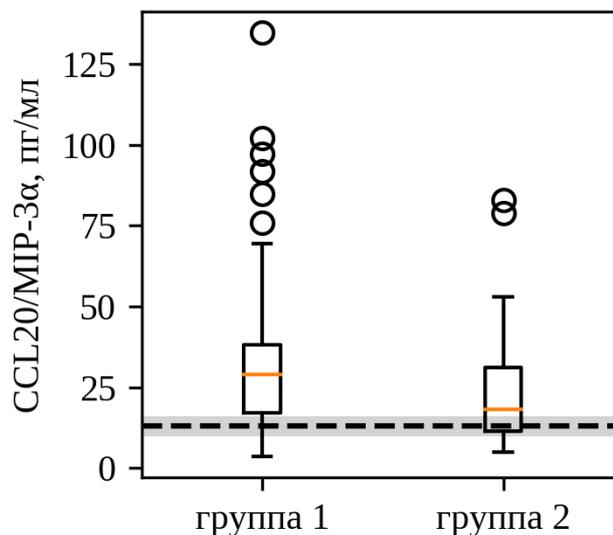


Рис.3. Сравнение концентраций хемокина CCL20/MIP-3 α в группах пациентов с ХГС, отягощенных коморбидностью и нет

В ходе проведения сравнения содержания различных популяций лимфоцитов, экспрессирующих CCR6+ и CXCR3+ рецепторы, в группах с сопутствующим коморбидным фоном и без него были выявлены различия по нескольким показателям, которые представлены в табл. 3.

По данным проточной цитометрии при сравнении показателей в двух группах наблюдалось достоверное преобладание в 1,6 раз содержания Т-хелперов, экспрессирующих CCR6+ рецептор, во II группе (пациенты без сопутствующей патологии) (Me 45,9; Q1 28,05; Q3 66,56) над I (Me 28,35; Q1 22,18; Q3 37,23) ($p = 0,004$) (рис.4). Данные значения в обеих группах не достигают таковых у условно здоровых людей. Содержание Th CCR6+ в I группе в 2,4 раз меньше нормальных значений, а во II — в 1,5 раз.

Таблица 3

Сравнительная характеристика содержания популяций лимфоцитов, экспрессирующих CCR6+ и CXCR3+, в плазме периферической крови у пациентов с ХГС с отягощенным коморбидным фоном и без него

Субпопуляции лимфоцитов	Содержание популяций лимфоцитов с CCR6+ и CXCR3+, %				P(M-W)
	ХГС с коморбидностью		ХГС без коморбидности		
	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	
Т-хелперы CCR6+	28,35 (n = 40)	22,18-37,23	45,9 (n = 39)	28,1-66,5	0,004
CTL	38,35 (n = 40)	24,13-70,6	74,8 (n = 39)	36,95-81,8	0,007
CTL CCR6+	6,0 (n = 40)	4,75-9,32	9,4 (n = 39)	5,72-14,51	0,04
NK CCR6+	2,5 (n = 40)	1,5-3,6	4,5 (n = 39)	2,7-6,7	0,01
NK CXCR3+	9,35 (n = 40)	5,4-13,6	15,5 (n = 39)	7,6-32,8	0,02
NKT CCR6+	14,3 (n = 40)	8,6-21,6	38,45 (n = 39)	10,6-55,2	0,03
NKT CXCR3+	16,25(n = 40)	12,5-27,2	30,2(n = 39)	20,45-47,8	0,01

* достоверность изменения этих показателей, рассчитанная по трем временным точкам методом Манна-Уитни.

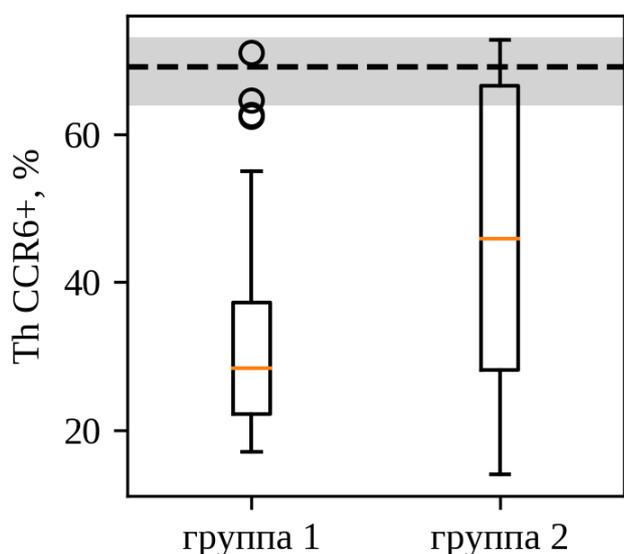
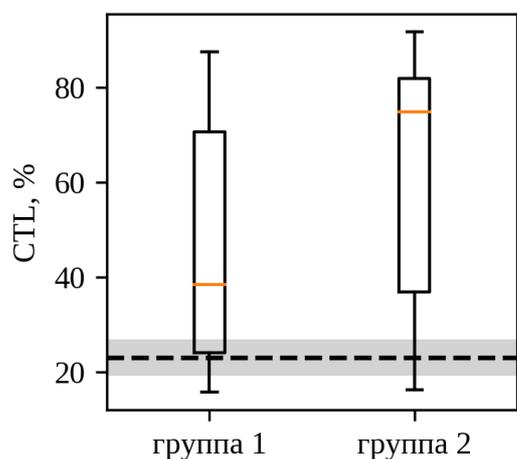


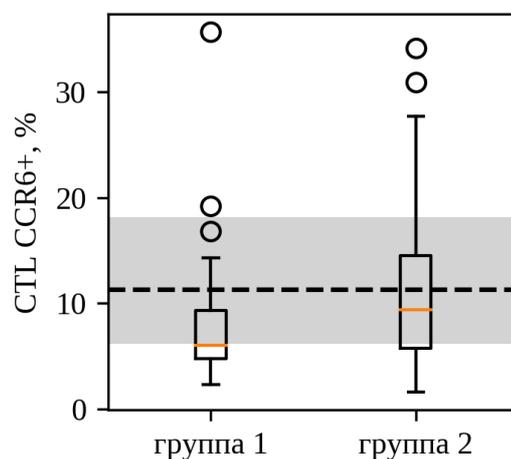
Рис.4. Сравнение содержания Т-хелперов CCR6+ в группах пациентов с ХГС, отягощенных коморбидностью и нет

Параллельно с обнаруженным достоверным различием в группах I и II по содержанию Th CCR6+ также было выявлено преобладание содержания в группе пациентов без сопутствующей патологии как CTL лимфоцитов, так и CTL CCR6+ (рис.5). Так, медианные значения содержания CTL во II группе (Me 74,8; Q1 36,95; Q3 81,8) в 2 раза превышали показатели в I группе (Me 38,35; Q1 24,13; Q3 70,6) ($p = 0,007$) и оказались больше нормальных значений в 1,7 для I группы и 3,3 раз для II соответственно. Результаты по содержанию CTL CCR6+ показывают увеличение во II группе (Me 9,4; Q1 5,72; Q3 14,51) в сравнении с I (Me 6; Q1 4,75; Q3 9,32) в 1,6 раз ($p = 0,04$), но содержание данного показателя практически совпадает с вариантом нормы.

Было определено содержание клеток врожденного иммунитета, обладающих цитотоксической активностью, в двух исследуемых группах. NK CCR6+ клетки у пациентов I группы меньше нормальных значений в 2,28 раза, а у пациентов II группы — в 1,2

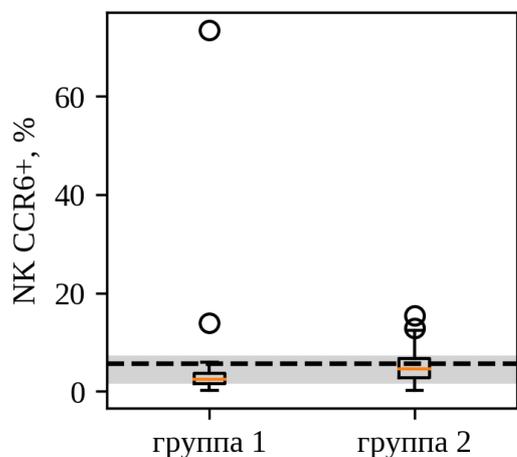


а

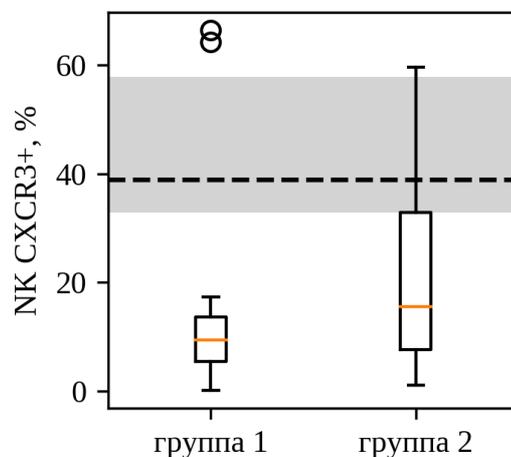


б

Рис.5. Сравнение содержания CTL – лимфоцитов (а) и содержания CTL CCR6+ лимфоцитов (б) в группах пациентов с ХГС, отягощенных коморбидностью и нет



а



б

Рис.6. Сравнение содержания NK CCR6+ (а) и NK CXCR3+ (а) в группах пациентов с ХГС, отягощенных коморбидностью и нет

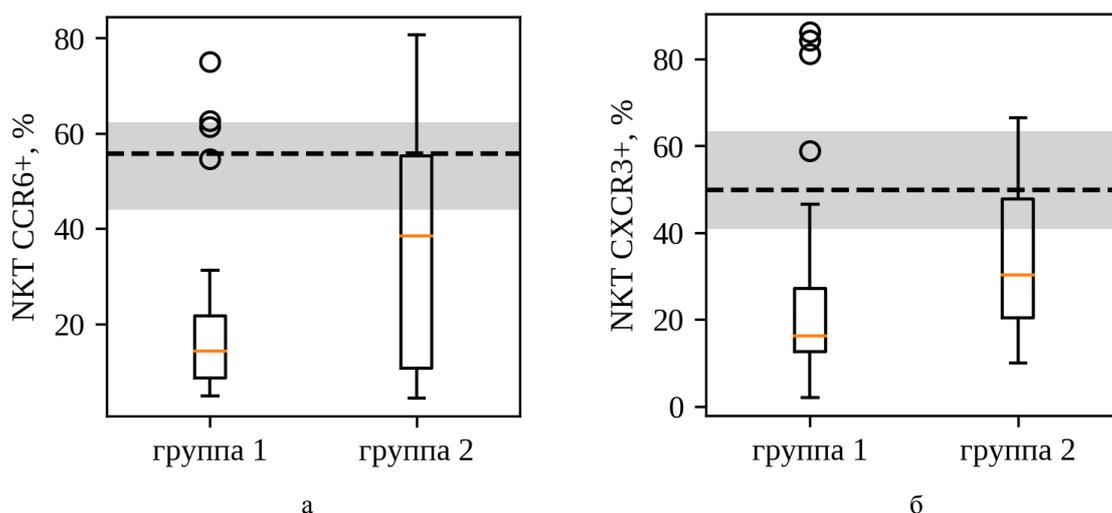


Рис.7. Сравнение содержания TNK CCR6+ (а) и TNK CXCR3+ (б) в группах пациентов с ХГС, отягощенных коморбидностью и нет

раз. При сравнении двух групп выявлено, что медианные значения содержания NK CCR6+ клеток во II группе (Me 4,5; Q1 2,7; Q3 6,7) в 1,8 раз больше, чем в I группе (Me 2,5; Q1 1,5; Q3 3,6) с достоверностью ($p=0,01$) (рис. 7 и 8). Содержание NK CXCR3+ было меньше варианта нормы в 3,8 раз для I группы и в 2,5 раз для II группы соответственно. У пациентов II группы содержание NK CXCR3+ (Me 15,5; Q1 7,6; Q3 32,8) в 1,6 раз больше, чем в I (Me 9,35; Q1 5,4; Q3 13,6) ($p=0,02$).

У пациентов I группы содержание NKT CCR6+ клеток было в 3,9 раз, а II группы — в 1,5 раз меньше, чем нормальные показатели. Содержание данного показателя в I группе (Me 14,3; Q1 8,6; Q3 21,6) меньше в 2,7 раз, чем во II (Me 38,45; Q1 10,6; Q3 55,2) ($p = 0,03$). Содержание NK CXCR3+ было меньше нормы в 3 раза для I группы и в 1,7 раз — для II, а содержание во II группе (Me 30,2; Q1 20,45; Q3 47,8) в 1,9 раз превышало таковое во I группе (Me 16,25; Q1 12,5; Q3 27,2) ($p = 0,01$) (рис.7).

В ходе нашего исследования были получены данные о выраженном угнетении адаптивного (снижение содержания Т-хелперов (CD4+), цитотоксических лимфоцитов (CD8+)), а также врожденного (снижение содержания NK-, NKT-клеток) звеньев иммунитета у пациентов с ХГС с наличием коморбидности и мультиморбидности и без нее в сравнении с условно здоровыми лицами. Степень угнете-

ния содержания иммунных клеток была достоверно выше у лиц с наличием сопутствующей патологии, в особенности при поражении поджелудочной и щитовидной желез. Факт снижения содержания в периферической крови лимфоцитов, обладающих цитотоксической активностью, объясняется их истощением в ходе развития хронического инфекционного процесса (ХГС), что также описано в статьях зарубежных авторов. Дискуссионным остается вопрос о положительной роли истощения CD8+ лимфоцитов у пациентов с ХГС в прогнозе развития и течения сопутствующих заболеваний воспалительного и аутоиммунного характера (сахарный диабет 1 типа, васкулит, системная красная волчанка, идиопатический легочный фиброз и лихорадка Денге) [27].

При сравнении концентраций цитокинов/хемокинов в периферической крови пациентов с различными вариантами коморбидного фона также были выявлены достоверные различия по CCL20/MIP-3 α , представленные в табл.4.

В результате проведения сравнительного анализа концентраций цитокинов/хемокинов в трех группах пациентов с различной коморбидностью было выявлено достоверно значимое преобладание концентрации хемокина CCL20/MIP-3 α в группе с эндокринной патологией (преимущественно СД 1 и 2 типа) ($p = 0,05$) (рис.8).

Таблица 4

Сравнительная характеристика концентраций цитокинов и хемокинов в плазме периферической крови у пациентов с ХГС с отягощенным коморбидным фоном и без него

Цитокины/ Хемокины	Концентрация в плазме крови, пг/мл						P(K-Y)
	Группа А		Группа В		Группа С		
	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3	
CCL20/MIP-3 α	28,5 (n = 30)	17,8-35,7	16,5 (n = 5)	16,5-28,9	40,7 (n = 5)	34,9-97,1	0,05

* достоверность изменения этих показателей, рассчитанная по трем временным точкам методом Краскела—Уоллиса.

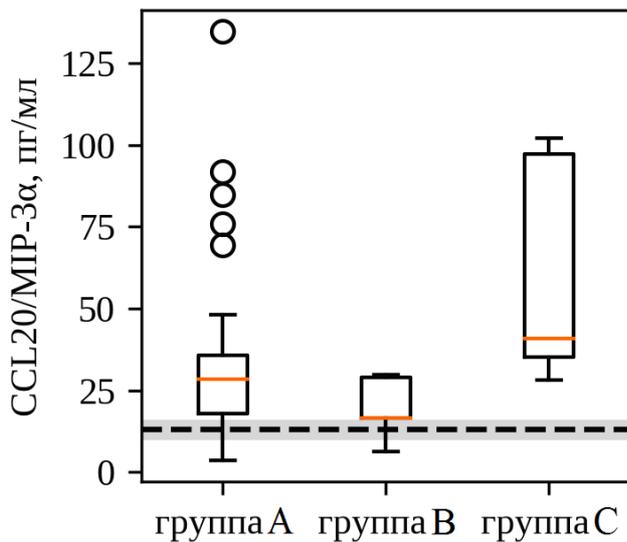


Рис.8. Сравнение концентрации CCL20/MIP-3α в группах пациентов с ХГС, отягощенных различным коморбидным фоном

При сравнении пациентов трех групп выявлены достоверные различия между содержанием НКТ CCR6+ у пациентов с ХГС с эндокринной патологией и патологиями ЖКТ и ССС ($p = 0,04$) (рис.9).

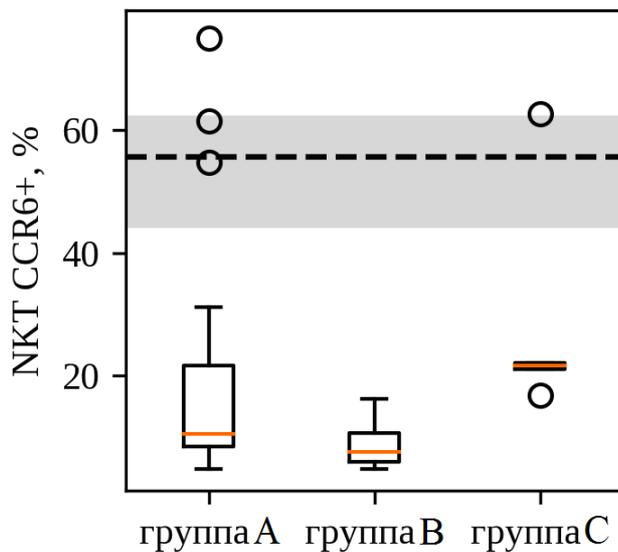


Рис.9. Сравнение содержания НКТ CCR6+ в группах пациентов с ХГС, отягощенных различным коморбидным фоном

Выводы

Высокая распространённость коморбидности и мультиморбидности обнаружена у пациентов с ХГС. Среди выявленной сопутствующей патологии у обследованных преобладали болезни желчевыводящих путей и поджелудочной железы, также часто встречались заболевания сердечно-сосудистой системы и эндокринная патология.

Увеличение концентраций биологически активных веществ — цитокинов/хемокинов — было обнаружено в периферической крови у пациентов с наличием сопутствующей патологии. Так, хемокины

CXCL9/MIG, CCL20/MIP-3α, в 2 и в 1,6 раз превышали данные показатели в группе пациентов без сопутствующей патологии и были в 4,9 и 2,5 раз больше, чем в группе условно здоровых лиц. При сравнении различных групп коморбидного фона выявлено преобладание концентраций хемокина CCL20/MIP-3α у пациентов с эндокринной патологией с преобладанием СД 1 и 2 типа.

Клеточное звено как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа было наиболее сильно угнетено в группе пациентов с наличием коморбидного и мультиморбидного фона, с особой выраженностью — в группе больных с эндокринными заболеваниями, в том числе СД 1 и 2 типов. Данные наблюдения могут быть показателем взаимного влияния ХГС и коморбидного фона и требуют более подробного изучения в дальнейшем.

1. Дземова А.А., Ганченко Р.А., Трифонова Г.Ф., Эсауленко Е.В. Хронический гепатит С в Российской Федерации после начала программы элиминации HCV-инфекции // Гепатология и гастроэнтерология. 2020. Т.4(2). С.165-170. DOI: <https://doi.org/10.25298/2616-5546-2020-4-2-165-170>
2. World Health Organization. 2018. [Эл. ресурс]. URL: https://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2018/EN_WHS2018_TOC.pdf (дата обращения: 5.11.2021).
3. Heydtmann M., Adams D.H. Chemokines in the immunopathogenesis of hepatitis C infection // Hepatology. 2009. Vol.49. №2. P.676-688. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.22763>
4. Арсентьева Н.А., Семенов А.В., Любимова Н.Е. и др. Содержание цитокинов и хемокинов в плазме крови больных хроническим вирусным гепатитом С // Российский иммунологический журнал. 2015. Т.9(18). №1. С.83-92.
5. Арсентьева Н.А., Семенов А.В., Любимова Н.Е. и др. Хемокиновые рецепторы CXCR3 и CCR6 и их лиганды в печени и крови больных хроническим вирусным гепатитом С // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015. Т.160(8). С.218-222. DOI: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2019-4-617-632>
6. Larrubia J., Benito-Martínez S., Calvino M. et al. Role of chemokines and their receptors in viral persistence and liver damage during chronic hepatitis C virus infection // World Journal of Gastroenterology. 2008. Vol.14(47). P.7149-7159. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.14.7149>
7. Cooper C., Galanakis C., Donelle J. et al. HCV-infected individuals have higher prevalence of comorbidity and multimorbidity: a retrospective cohort study // BMC Infectious Diseases. 2019. Vol.19. Article number: 712. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4315-6>
8. Negro F. Facts and fictions of HCV and comorbidities: steatosis, diabetes mellitus, and cardiovascular diseases // Journal of Hepatology. 2014. Vol.61(1). P.S69-S78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.08.003>
9. ВИЧ-инфекция и коморбидные состояния в Северо-Западном федеральном округе Российской Федерации в 2018 году: аналитический обзор / Под ред. Н.А.Белякова. СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2019. 56 с.
10. Эсауленко Е.В., Сухорук А.А. Трансплантация печени в детском возрасте и у взрослых // Педиатр. 2015. Т.6. №3. С.98-103.
11. Новак К.Е., Карев В.Е., Дунаева Н.В., Эсауленко Е.В.. Характеристика регенераторной способности печени (по экспрессии Ki-67) у больных с неблагоприятными исходами хронических вирусных гепатитов // Фундаментальные исследования. 2011. №6. С.138-143.
12. Новак К.Е., Карев В.Е., Дунаева Н.В. и др. Постмортальная морфологическая характеристика печени больных хроническими вирусными гепатитами с клиническими признаками цирроза // Российский медицинский журнал. 2011. №2. С.8-11.

13. Labenz C., Huber Y., Kalliga E. et al. Predictors of advanced fibrosis in non-cirrhotic non-alcoholic fatty liver disease in Germany // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2018. Vol.48(10). P.1109-1116. DOI: <https://doi.org/10.1111/apt.14976>
 14. Badawi A., Di Giuseppe G., Arora P. Cardiovascular disease risk in patients with hepatitis C infection: Results from two general population health surveys in Canada and the United States (2007-2017) // *PLoS One*. 2018. Vol.12. P.13(12). Article number: 0208839. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208839>
 15. McPherson S., Gosrani S., Hogg S. et al. Increased cardiovascular risk and reduced quality of life are highly prevalent among individuals with hepatitis C // *BMJ Open Gastroenterology*. 2020. Vol.7(1). Article number: 000470. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjgast-2020-000470>
 16. Kuna L., Jakab J., Smolic R. et al. HCV Extrahepatic Manifestations // *Journal of Clinical and Translational Hepatology*. 2019. Vol. 7(2). P.172-182. DOI: <https://doi.org/10.14218/JCTH.2018.00049>
 17. Yan F., Chen A., Hao F. et al. Hepatitis C virus may infect extrahepatic tissues in patients with hepatitis C // *World Journal Gastroenterology*. 2000. Vol.6(6). P.805-811. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v6.i6.805>
 18. Sayed-Ahmed L., Kotb N., El-Serogy H. et al. TNF-alpha and CXCL-10 correlation with insulin resistance in patients with chronic hepatitis C virus infection // *Egyptian Journal of Immunology*. 2010. Vol. 17(1). P.101-111.
 19. Hung C-H., Lee C-M., Lu S-N. Hepatitis C virus-associated insulin resistance: pathogenic mechanisms and clinical implications // *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2011. Vol.9(5). P.525-33. DOI: <https://doi.org/10.1586/eri.11.33>
 20. Liu C., Feng X., Li Q. et al. TNF- α and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis // *Cytokine*. 2016. Vol.86. P.100-109. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.06.028>
 21. Gonnella D. Type 1 diabetes and MIG // *Clinical Therapeutics*. 2019. Vol. 170(6). P.e465-e471. DOI: <https://doi.org/10.7417/CT.2019.2177>
 22. Antonelli A., Ferrari S., Corrado A. et al. CXCR3, CXCL10 and type 1 diabetes // *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2014. Vol.25(1). P. 57-65. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2014.01.006>
 23. Hung C-H., Lee C-M., Chen C-H. et al. Association of inflammatory and anti-inflammatory cytokines with insulin resistance in chronic hepatitis C // *Liver International*. 2009. Vol.29(7). P.1086-93. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2009.01991>
 24. Corrado A., Ferrari S., Ferri C. et al. Type 1 diabetes and (C-X-C motif) ligand (CXCL) 10 chemokine // *Clinical Therapeutics*. 2014. Vol.165(2). P.181-185. DOI: <https://doi.org/10.7471/CT.2014.1706>
 25. Ferrari S., Ruffilli I., Colaci M. et al. CXCL10 in psoriasis // *Advances in Medical Sciences*. 2015. Vol. 60(2). P.349-354. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.advms.2015.07.011>
 26. Antonelli A., Ferrari S., Giuggioli D. et al. Chemokine (C-X-C motif) ligand (CXCL)10 in autoimmune diseases // *Autoimmunity Reviews*. 2014. Vol.13(3). P. 272-280. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2013.10.010>
 27. McKinney E., Lee J., Jayne D. et al. T-cell exhaustion, costimulation and clinical outcome in autoimmunity and infection // *Nature*. 2015. Vol.30. P.523(7562). 612-6. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14468>. Epub 2015 Jun 29
- References**
1. Dzemova, A.A., Ganchenko R.A., Trifonova G.F., Esaulenko E.V. Hronicheskij gepatit S v Rossijskoj Federacii posle nachala programmy eliminacii HCV-infekcii. *Gepatologiya i Gastroenterologiya*. 2020; 4(2):165-170.
 2. World Health Organization. 2018. [Электр. ресурс]. URL: https://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2018/EN_WHS2018_TOC.pdf (дата обращения: 5.11.2021).
 3. Heydtmann M., Adams D.H. Chemokines in the immunopathogenesis of hepatitis C infection // *Hepatology*. 2009. Vol.49. №2. P.676-688. DOI: <https://doi.org/10.1002/hep.22763>
 4. Arsent'eva N.A., Semenov A.V., Lyubimova N.E., Basina V.V., Esaulenko E.V., Kozlov K.V., Zhdanov K.V., Totolyan A.A. Soderzhanie citokinov i hemokinov v plazme krovi bol'nyh hronicheskim virusnym gepatitom S. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal*. 2015; 9(18): 83-92.
 5. Belyakov N.A., Boeva E.V., Bushmanova A.D., Ogurcova S.V., Rassohin V.V., Svetlichnaya YU.S., Trifonova G.F., Esaulenko E.V., Azovceva O.V., Asadullaev M.R., Amozov A.M., Baryshkov K.V., Belkin I.V., Zagdyn Z.M., Kovelonov A.YU., Kozenkov D.S., Kurganova T.YU., Mel'nikova T.N., Pogan S.S., Popova E.S. i dr. Vich-infekciya i komorbidnye sostoyaniya v severo-zapadnom federal'nom okruge rossijskoj federacii v 2018 godu. *Analiticheskij obzor / Sankt-Peterburg*, 2019.
 6. Larrubia J., Benito-Martinez S., Calvino M. et al. Role of chemokines and their receptors in viral persistence and liver damage during chronic hepatitis C virus infection // *World Journal of Gastroenterology*. 2008. Vol.14(47). P.7149-7159. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.14.7149>
 7. Cooper C., Galanakis C., Donelle J. et al. HCV-infected individuals have higher prevalence of comorbidity and multimorbidity: a retrospective cohort study // *Bmc Infectious Diseases*. 2019. Vol.19. Article number: 712. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4315-6>
 8. Negro F. Facts and fictions of HCV and comorbidities: steatosis, diabetes mellitus, and cardiovascular diseases // *Journal of Hepatology*. 2014. Vol.61(1). P.S69-S78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.08.003>
 9. Belyakov N.A., Boeva E.V., Bushmanova A.D., Ogurcova S.V., Rassohin V.V., Svetlichnaya YU.S., Trifonova G.F., Esaulenko E.V., Azovceva O.V., Asadullaev M.R., Amozov A.M., Baryshkov K.V., Belkin I.V., Zagdyn Z.M., Kovelonov A.YU., Kozenkov D.S., Kurganova T.YU., Mel'nikova T.N., Pogan S.S., Popova E.S. i dr. Vich-infekciya i komorbidnye sostoyaniya v severo-zapadnom federal'nom okruge rossijskoj federacii v 2018 godu. *Analiticheskij obzor / Sankt-Peterburg*, 2019.
 10. Esaulenko E.V., Suhoruk A.A. Transplantaciya pecheni v detskom vozraste i u vzroslyh. *Pediatr*. 2015. T. 6. № 3. S. 98-103.
 11. Novak K.E., Karev V.E., Dunaeva N.V., Esaulenko E.V. Harakteristika regeneratornoj sposobnosti pecheni(po ekspressii ki-67) u bol'nyh s neblagopriyatnymi iskhodami hronicheskikh virusnyh gepatitov. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2011. № 6. S. 138-143.
 12. Novak K.E., Karev V.E., Dunaeva N.V., Esaulenko E.V. Postmortal'naya morfologicheskaya harakteristika pecheni bol'nyh hronicheskimi virusnymi gepatitami s klinicheskimi priznakami cirroza. *Rossijskij medicinskij zhurnal*. 2011. № 2. S. 8-11.
 13. Labenz C., Huber Y., Kalliga E. et al. Predictors of advanced fibrosis in non-cirrhotic non-alcoholic fatty liver disease in Germany // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2018. Vol.48(10). P.1109-1116. DOI: <https://doi.org/10.1111/apt.14976>
 14. Badawi A., Di Giuseppe G., Arora P. Cardiovascular disease risk in patients with hepatitis C infection: Results from two general population health surveys in Canada and the United States (2007-2017) // *PLoS One*. 2018. Vol.12. P.13(12). Article number: 0208839. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208839>
 15. McPherson S., Gosrani S., Hogg S. et al. Increased cardiovascular risk and reduced quality of life are highly prevalent among individuals with hepatitis C // *BMJ Open Gastroenterology*. 2020. Vol.7(1). Article number: 000470. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmjgast-2020-000470>
 16. Kuna L., Jakab J., Smolic R. et al. HCV Extrahepatic Manifestations // *Journal of Clinical and Translational Hepatology*. 2019. Vol. 7(2). P.172-182. DOI: <https://doi.org/10.14218/JCTH.2018.00049>
 17. Yan F., Chen A., Hao F. et al. Hepatitis C virus may infect extrahepatic tissues in patients with hepatitis C // *World Journal Gastroenterology*. 2000. Vol.6(6). P.805-811. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v6.i6.805>
 18. Sayed-Ahmed L., Kotb N., El-Serogy H. et al. TNF-alpha and CXCL-10 correlation with insulin resistance in patients with chronic hepatitis C virus infection // *Egyptian Journal of Immunology*. 2010. Vol. 17(1). P.101-111.
 19. Hung C-H., Lee C-M., Lu S-N. Hepatitis C virus-associated insulin resistance: pathogenic mechanisms and clinical implications // *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2011. Vol.9(5). P.525-533. DOI: <https://doi.org/10.1586/eri.11.33>

20. Liu C., Feng X., Li Q. et al. TNF- α and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis // *Cytokine*. 2016. Vol.86. P.100-109. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2016.06.028>
21. Gonnella D. Type 1 diabetes and MIG // *Clinical Therapeutics*. 2019. Vol. 170(6). P.e465-e471. DOI: <https://doi.org/10.7417/CT.2019.2177>
22. Antonelli A., Ferrari S., Corrado A. et al. CXCR3, CXCL10 and type 1 diabetes // *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2014. Vol.25(1). P. 57-65. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2014.01.006>
23. Hung C-H., Lee C-M., Chen C-H. et al. Association of inflammatory and anti-inflammatory cytokines with insulin resistance in chronic hepatitis C // *Liver International*. 2009. Vol.29(7). P.1086-93. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2009.01991>
24. Corrado A. Ferrari S., Ferri C. et al. Type 1 diabetes and (C-X-C motif) ligand (CXCL) 10 chemokine // *Clinical Therapeutics*. 2014. Vol.165(2). P.181-185. DOI: <https://doi.org/10.7471/CT.2014.1706>
25. Ferrari S., Ruffilli I., Colaci M. et al. CXCL10 in psoriasis // *Advances in Medical Sciences*. 2015. Vol. 60(2). P.349-354. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.advms.2015.07.011>
26. Antonelli A. Ferrari S., Giuggioli D. et al. Chemokine (C-X-C motif) ligand (CXCL)10 in autoimmune diseases // *Autoimmunity Reviews*. 2014. Vol.13(3). P. 272-280. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2013.10.010>
27. McKinney E., Lee J., Jayne D. et al. T-cell exhaustion, co-stimulation and clinical outcome in autoimmunity and infection // *Nature*. 2015. Vol.30. P.523(7562). 612-6. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14468>