

УДК 616.36-002.17/.2-017.1

## СЫВОРОТОЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕМЕЙСТВА ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА-B У ПАЦИЕНТОВ С ФИБРОЗОМ ПЕЧЕНИ ПРИ HCV-ИНФЕКЦИИ

**Горелова И.С., Маркелова Е.В., Скляр Л.Ф.**

*ГБОУ ВПО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава РФ,  
Владивосток, e-mail: Gorelova\_ira@mail.ru*

Трансформирующий фактор роста-β (ТФР-β) – плейотропный цитокин, принимающий активное участие в поддержании иммунного гомеостаза организме, а также в процессе ремоделирования внеклеточного матрикса. Концентрация ТФР-β1, ТФР-β2 и ТФР-β3 в сыворотке крови у HCV-инфицированных пациентов статистически значимо снижалась ( $p < 0,05$ ) по мере прогрессирования структурных изменений в архитектонике печеночной ткани. Высокие сывороточные значения изоформ фактора роста при ранних стадиях фиброза печени (F0 ст.) относительно их содержания в группе пациентов с выраженными фиброзными изменениями в органе-мишени (F3-4 ст.) могут быть одним из механизмов, который способствует «ускользанию» вируса гепатита С (ВГС) из-под иммунного ответа организма-хозяина. Следовательно, ТФР-β в сыворотке крови, выполняя диаметрально противоположные эффекты (иммуносупрессивный и провоспалительный), на начальных стадиях патологического процесса способствует персистенции и хронизации HCV-инфекции. Дальнейшее прогрессирование хронического гепатита С (ХГС) с формированием фиброза и цирроза печени сопровождается снижением системного уровня всех изоформ фактора роста, что, вероятно, связано с реализацией профиброгенного эффекта ТФР-β непосредственно в органе-мишени. Таким образом, результаты исследований могут свидетельствовать о ключевой роли плейотропного ТФР-β в иммунофиброгенезе печени при HCV-инфекции.

**Ключевые слова:** трансформирующий фактор роста-β (ТФР-β), хронический гепатит С (ХГС), фиброз печени.

## SERUM LEVELS OF THE TRANSFORMING GROWTH FACTOR-B FAMILY IN PATIENTS WITH LIVER FIBROSIS OF HCV-INFECTIOIN

**Gorelova I.S., Markelova E.V., Skljar L.F.**

*Pacific State Medical University, Vladivostok, e-mail: Gorelova\_ira@mail.ru*

Transforming growth factor-β (TGF-β) is a pleiotropic cytokine involved critical in maintaining immune homeostasis of organism and remodeling of the extracellular matrix. Concentration of TGF-β1, TGF-β2 and TGF-β3 in the serum blood in HCV-infected patients statistically significantly was decreased ( $p < 0,05$ ) as the process of progressing of structural changes in the liver parenchyma. Serum levels of TGF-β isoforms as early stage of liver fibrosis (F0) were increased in comparison to patients with advanced fibrotic changes in target-organ ( F3-4). It may be one of mechanisms promoting hepatitis C virus (HCV) «escapes» from under the immune response of macro-organism. Therefore in the serum blood TGF-β isoforms regulating the opposite process (immunosuppression and pro-inflammatory) as initial stage of pathological process promote a persistence and chronic HCV-infection. As chronic hepatitis progresses with formation of fibrosis and cirrhosis in the liver system levels of TGF-β isoforms were decreased. Probably it should be considered as realization of profibrogenic effect TGF-β directly in target-organ. Thus results of investigation may confirm the significance role of pleiotropic TGF-β in the fibrogenesis of the liver in HCV-infection.

**Keywords:** transforming growth factor-β (TGF-β), chronic hepatitis C (CHC), liver fibrosis

В настоящее время признано, что иммунологические механизмы являются одними из ведущих в патогенезе хронического гепатита С (ХГС) и его исходах [3, 8]. Имеются убедительные данные о роли дисбаланса цитокинов на системном и локальном уровнях в вирусной персистенции и хронизации HCV-инфекции [5, 11]. Многие авторы считают, что определение содержания цитокинов в биологических средах может свидетельствовать о функциональной активности различных иммунокомпетентных клеток, а следовательно, о патологическом процессе в целом, его течении и исходе [5].

Мы исследовали состояния системы трансформирующего фактора роста-β (ТФР-β), его изоформ ТФР-β1, ТФР-β2 и

ТФР-β3 в сыворотке крови в проекции с морфологическими параметрами. Выбор исследуемых цитокинов у наблюдаемых нами пациентов связан с их биологическими эффектами при ХГС. А именно иммуносупрессивное влияние, проявляющееся количественной и функциональной недостаточностью эффекторных иммунокомпетентных клеток, которое способствует «ускользанию вируса» из-под иммунного ответа, а следовательно, формированию и персистенции HCV-инфекции [12]. Кроме того, ТФР-β оказывает провоспалительное действие, связанное с вовлечением иммунных эффекторных клеток в очаг повреждения печеночной ткани, а также с повышением устойчивости их к апоптозу, тем самым поддерживая воспалительный процесс в

органе, способствует хронизации и прогрессированию вирусной инфекции [13, 14]. Важно отметить профиброгенный эффект ТФР- $\beta$ , который заключается в стимулировании активности клеток, участвующих в ремоделировании ткани печени, прежде всего Ито [9, 13]. А также изучаемые цитокины принимают участие в формировании дисбаланса в системе протеиназ, которая является одним из основных звеньев фиброгенеза печени [10].

**Цель исследования** – изучить системный уровень ТФР- $\beta$ 1, ТФР- $\beta$ 2 и ТФР- $\beta$ 3 у пациентов с фиброзом печени при HCV-инфекции.

#### Материалы и методы исследования

Проведено комплексное клинико-лабораторное и инструментальное обследование 81 пациента в возрасте от 23 до 60 лет (средний возраст  $44,4 \pm 9,9$  лет) с диагнозом ХГС. Среди них преобладали женщины – 56 чел. (69,1 %), мужчин было 25 чел. (30,9 %). Противовирусную терапию пациенты не получали. Диагноз ХГС устанавливали на основании метода ПЦР. Стадию фиброза печени регистрировали по результатам эластографии и пункционной биопсии печени [2]. Содержание изоформ ТФР- $\beta$  в сыворотке крови определяли методом твердофазного ИФА с использованием диагностических наборов (R&D Diagnostics Inc., USA) с чувствительностью 1 пг/мл. Контрольную группу составили 22 клинически здоровых добровольца, сопоставимых по полу и возрасту с контингентом HCV-инфицированных пациентов. Математическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакета прикладных программ BIOSTATISTICA (S.A.Glantz, McGraw Hill), STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA).

#### Результаты исследования и их обсуждение

Все пациенты с HCV-инфекцией по результатам эластографии печени и/или гистологического исследования гепатобиоптатов были распределены в зависимости от стадии фиброза печени на три группы: I-я – пациенты, у которых признаки фиброза отсутствуют (F0 ст.) – 24 чел. (29,6 %), II-я – пациенты со слабовыраженным и умеренным фиброзом (F1-2 ст.) – 26 чел. (32,1 %),

III-я – пациенты с выраженным фиброзом и циррозом печени (F3-4 ст.) – 31 чел. (38,3 %).

Результаты исследований сывороточного уровня изоформ ТФР- $\beta$  представлены в таблице 1. Следует отметить, что среди членов системы фактора роста преобладает ТФР- $\beta$ 1, который является и наиболее изученным.

При анализе профиля ТФР- $\beta$  в сыворотке крови не было установлено статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ) в концентрации ТФР- $\beta$ 1 у пациентов ХГС ( $20,7 \pm 0,9$  нг/мл) и контрольной группы ( $21,2 \pm 0,4$  нг/мл). Полученные результаты не согласуются с некоторыми исследованиями отечественных и зарубежных авторов, в которых показано, что при HCV-инфекции увеличена концентрация ТФР- $\beta$ 1 в сыворотке крови в несколько раз, превышая аналогичный показатель у здоровых лиц [4, 6, 15]. Как видно из таблицы 1, наблюдается повышенный синтез ТФР- $\beta$ 2 при HCV-инфекции:  $167 \pm 3,7$  пг/мл против  $124,8 \pm 5,8$  пг/мл в норме ( $p < 0,01$ ), что, вероятно, имеет компенсаторный характер по отношению к другим изоформам белка. Выявленные в ходе работы данные свидетельствуют о снижении показателей ТФР- $\beta$ 3 при ХГС в сравнении с контрольной группой. Так, для ТФР- $\beta$ 3 они составили  $31,3 \pm 3,3$  пг/мл против  $131,6 \pm 7,3$  пг/мл ( $p < 0,001$ ).

В результате исследования нами изучено содержание фракций ТФР- $\beta$  в сыворотке крови HCV-инфицированных пациентов с учетом стадии фиброза печени (табл. 2).

Показатели ТФР- $\beta$ 1 имели характерные особенности в зависимости от стадии фиброза печени. Так, при отсутствии морфологических изменений в печени при ХГС уровень его снижался ( $19,1 \pm 0,9$  нг/мл против  $21,2 \pm 0,4$  нг/мл у здоровых,  $p < 0,05$ ). По мере прогрессирования фиброза (F1-2 ст.) концентрация ТФР- $\beta$ 1 возрастала до  $30,2 \pm 1,2$  нг/мл, а при выраженном фиброзе и циррозе печени (F3-4 ст.) вновь наблюдалось снижение ТФР- $\beta$ 1 до  $12,9 \pm 0,7$  нг/мл, что отличалось от контроля ( $p < 0,01$ ).

Таблица 1

Сывороточная концентрация изоформ ТФР- $\beta$  при ХГС, М $\pm$ s

Показатели	Здоровые доноры (n=22)	Пациенты ХГС (n=81)
ТФР- $\beta$ 1, нг/мл	$21,2 \pm 0,4$	$20,7 \pm 0,9$
ТФР- $\beta$ 2, пг/мл	$124,8 \pm 5,8$	$167 \pm 3,7^*$
ТФР- $\beta$ 3, пг/мл	$131,6 \pm 7,3$	$31,3 \pm 3,3^{**}$

Примечание. Статистическая значимость различий (p) с контрольной группой:

\* –  $p < 0,01$ ,

\*\* –  $p < 0,001$ .

Таблица 2

Содержание изоформ ТФР-β в сыворотке крови в зависимости от стадии фиброза печени при ХГС, M±s

Показатели	Здоровые доноры (n=22)	Пациенты ХГС (n=81)	Группы пациентов (n=81)		
			I (F0 ст., n=24), p1	II (F1-2 ст., n=26), p2	III (F3-4 ст., n=31), p3
ТФР-β1, нг/мл	21,2±0,4	20,7±0,9	19,1±0,9* p1-p2<0,05	30,2±1,2** p2-p3<0,05	12,9±0,7** p1-p3<0,05
ТФР-β2, пг/мл	124,8±5,8	167±3,7**	193,1±4,7** p1-p2<0,05	160,2±2,8** p2-p3<0,05	147,8±3,5** p1-p3<0,05
ТФР-β3, пг/мл	131,6±7,3	31,3±3,3***	47,9±3,5*** p1-p2<0,05	32,0±3,8*** p2-p3<0,05	13,9±2,7*** p1-p3<0,05

Примечание. Статистическая значимость различий (p): с контрольной группой: \* – p<0,05, \*\* – p<0,01, \*\*\* – p<0,001; между группами p1-p2, p1-p3, p2-p3.

Выявленные результаты подтверждают большинство современных исследований, посвященных изучению роли этого цитокина в формировании и развитии структурных преобразований в архитектонике печеночной ткани [11, 15]. В то же время в литературе встречаются работы, авторы которых отмечают наличие гиперсекреции данной фракции фактора роста и повышение его уровня в сыворотке крови у пациентов с HCV-ассоциированным циррозом печени относительно группы контроля [4,6]. С помощью корреляционного анализа обнаружена обратная зависимость средней силы между сывороточным уровнем ТФР-β1 и выраженностью фиброзных изменений в печени ( $r_s = -0,36$ ,  $p < 0,05$ ).

Как следует из таблицы 2, отмечена тенденция к снижению содержания ТФР-β2 и ТФР-β3 с прогрессированием патологических изменений в печени при HCV-инфекции, что согласуется с данными опубликованными А. Voumvouraki et al. (2010) [11]. Так, наименьший уровень их определен в группах пациентов с F3-4 ст., а именно 147,8±3,5 пг/мл и 13,9±2,7 пг/мл соответственно, в то время как аналогичные показатели у пациентов с отсутствием фиброза в органе-мишени составили 193,1±4,7 пг/мл и 47,9±3,5 пг/мл соответственно ( $p < 0,05$ ). При корреляционном анализе определены статистически значимые взаимосвязи концентраций ТФР-β2 и ТФР-β3 с нарушением архитектоники печеночной ткани. Так, для ТФР-β2 обнаружена обратная средней силы связь с выраженной стадией фиброза и циррозом печени ( $r_s = -0,53$ ,  $p < 0,05$ ), а для ТФР-β3 – обратная сильная ( $r_s = -0,91$ ,  $p < 0,05$ ).

### Заключение

Установленные системные изменения представителей семейства ростового фактора могут подтверждать плейотропную роль ТФР-β в иммунопатогенезе данной гепато-

тропной вирусной инфекции. Высокие сывороточные значения фракций фактора роста при начальных HCV-ассоциированных фиброзных изменениях в органе-мишени (F0 ст.) относительно их содержания в группе пациентов с выраженной стадией фиброза и цирроза печени (F3-4 ст.) могут быть одним из механизмов, который способствует «ускользанию» вируса из-под иммунного ответа организма-хозяина. А именно, избыток ТФР-β угнетает синтез цитокинов, обладающих защитным противовирусным эффектом, то есть ИЛ-2 и ИФН-γ [1, 7], в то же время индуцирует продукцию ключевых медиаторов воспаления и клеточных иммунных реакций, прежде всего ФНО-α и ИЛ-10 [3, 5]. Таким образом, учитывая данные литературы и полученные нами результаты, можно обобщить, что ТФР-β в сыворотке крови, выполняя диаметрально противоположные эффекты (иммуносупрессивный и провоспалительный), на начальных стадиях патологического процесса способствует персистенции и хронизации HCV-инфекции. Дальнейшее прогрессирование ХГС с формированием фиброза и цирроза печени сопровождается снижением системного уровня всех изоформ фактора роста, что, вероятно, связано с реализацией профиброгенного эффекта ТФР-β непосредственно в органе-мишени.

Подводя итог вышесказанному, можно сделать вывод, что полученные результаты указывают на участие системы ТФР-β в процессе фиброгенеза печени при HCV-инфекции, а также подтверждают данные литературы о том, что сывороточные уровни изоформ фактора роста могут отражать выраженность патологического процесса в органе-мишени у пациентов ХГС.

### Список литературы

1. Козлов В.К. Цитокиноterapia: патогенетическая направленность при инфекционных заболеваниях и клиниче-

ская эффективность: руководство для врачей / В. К. Козлов. – СПб.: Альтер Эго, 2010. – 148 с.

2. Морфологические исследования в диагностике хронических вирусных гепатитов / Е.А. Алейникова, Б.А. Сотниченко, О.Г. Полушин [и др.] // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2008. – № 4. – С. 41 – 43.

3. Профиль цитокинов и хемокинов в плазме крови пациентов с хроническим гепатитом С / К.А. Сысоев, А.Б. Чухловин, Д.М. Шахманов [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2013. – Т. 3, № 1. – С. 49-58.

4. Уровень трансформирующего фактора роста-1 $\beta$  и тканевого ингибитора металлопротеиназы 1-типа в сыворотке крови у больных хроническим гепатитом С / А.А. Мухаджиев, С.Н. Маммаев, Ш.Р. Рамазанов [и др.] // Гепатология сегодня: мат. Восемнадцатого Рос. конгр., г. Москва, 25-27 марта 2013 г. – (Прил. № 40 к Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2013. – Т. XXIII, № 1. – С. 38).

5. Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы. – М.: Гэотар-Медиа, 2009. – 352 с.

6. Широнова Н. Л. Клинико-патогенетическое значение фактора некроза опухоли-альфа, интерлейкина-6, трансформирующего фактора роста-бета 1 при хроническом гепатите С: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.10 : 14.00.16 / Широнова Наталья Леонидовна; [С.-Петерб. гос. мед. ун-т им. И.П. Павлова]. – СПб., 2008. – 15 с.

7. Amelioration of hepatic fibrosis by NK cell activation / N. Muhanna, L.A. Tair, S. Doron [et al.] // Gut. – 2011. – Vol. 60, № 1. – P. 90-98.

8. Ciuffreda D. Update on hepatitis C virus-specific immunity / D. Ciuffreda, A.Y. Kim // Curr Opin HIV AIDS. – 2011. – Vol. 6 (6). – P. 559 – 565.

9. Evidence for the involvement of TGF- $\beta$ 1–CTGF axis in liver fibrogenesis secondary to hepatic viral infection / D. Tache, Fl. Bogdan, C. Pisoschi et al. // Rom J Morphol Embryol. – 2011. – Vol. 52. (1 Suppl). – P. 409 – 412

10. Ghaleb, H.A. A novel hypothesis for pathophysiology of hepatitis fibrosis in hepatitis C viral infection / H.A. Ghaleb, S. Salah // Hypothesis. – 2011. – Vol. 9, No.1. – P. 1 – 5.

11. Increased TGF- $\beta$ 3 in primary biliary cirrhosis: An abnormality related to pathogenesis? / A. Voumvouraki, M. Koulentaki, M. Tzardi et al. // World J. Gastroenterol. – 2010. – Vol. 16 (40). – P. 5057–5064.

12. Investigation of Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 Gene Polymorphisms Among Iranian Patients With Chronic Hepatitis C / S. Romani, P. Azimzadeh, S. R. Mohebbi et al. // Hepat Mon. – 2011. – Vol. 11 (11). – P. 901-906.

13. Lee U.E. Mechanisms of Hepatic Fibrogenesis / U.E. Lee, S.L. Friedman // Best Pract Res Clin Gastroenterol. – 2011. – Vol. 25 (2). – P. 195 – 206.

14. Mormone E. Molecular pathogenesis of hepatic fibrosis and current therapeutic approaches / E. Mormone, J. George, N. Natalia Nieto // Chem Biol Interact. – 2011. – Vol. 193(3). – P. 225 – 231.

15. The role of plasma transforming growth factor beta-1 in the development of fibrosis in patient with HCV related steatohepatitis / G.M. Soliman, K.A. Mohammed, A. Taha [et al.] // J. Egypt. Soc. Parasitol. – 2010. – Vol. 40, № 3. – P. 759-772.

## References

1. Kozlov, V.K. Citokinoterapija: patogeneticheskaja napravlenost' pri infekcionnyh zabolovanijah i klinicheskaja jeffektivnost' : rukovodstvo dlja vrachej / V. K. Kozlov, SPb. : Al'ter Jego, 2010, 148 s.

2. Morfoloicheskie issledovanija v diagnostike hronicheskikh virusnyh gepatitov / E. A. Alejnjkova, B. A. Sotnichenko, O. G. Polushin [i dr.], Tihookeanskij medicinskij zhurnal, 2008, № 4, S. 41 – 43.

3. Profil' citokinov i hemokinov v plazme krovi pacientov s hronicheskim gepatitom S / K.A. Sysoev, A.B. Chuhlovin, D.M. Shahmanov [i dr.], Infekcija i immunitet, 2013, T. 3, № 1, S. 49-58.

4. Uroven' transformirujushhego faktora rosta-1 $\beta$  i tkanevogo ingibitora metalloproteinazy 1-tipa v syrotke krovi u bol'nyh hronicheskim gepatitom S / A.A. Muzhadzhiev, S.N. Mammaev, Sh. R. Ramazanov [i dr.], Gepatologija segodnja : mat. Vosemnadcatogo Ros. kongr., g. Moskva, 25-27 marta 2013 g. (Pril. № 40 k Ros. zhurn. gastrojenterologii, gepatologii, koloproktologii, 2013, T. HXIII, № 1, S. 38).

5. Haitov R. M., Jarilin A. A., Pinegin B. V. Rukovodstvo po klinicheskoi immunologii. Diagnostika zabolovanij immunnogo sistemy, M.: Gjeotar-Media, 2009, 352 s.

6. Shironina, N. L. Kliniko-patogeneticheskoe znachenie faktora nekroza opuholi-al'fa, interlejkina-6, transformirujushhego faktora rosta-beta 1 pri hronicheskome gepatite S : avto-ref. dis. ... kand. med. nauk : 14.00.10 : 14.00.16 / Shironina Natal'ja Leonidovna; [S.-Peterb. gos. med. un-t im. I. P. Pavlova], SPb., 2008, 15 s.

7. Amelioration of hepatic fibrosis by NK cell activation / N. Muhanna, L. A. Tair, S. Doron [et al.], Gut, 2011, Vol. 60, № 1, P. 90-98.

8. Ciuffreda, D. Update on hepatitis C virus-specific immunity / D. Ciuffreda, A. Y. Kim, Curr Opin HIV AIDS, 2011, Vol. 6 (6), P. 559 – 565.

9. Evidence for the involvement of TGF- $\beta$ 1–CTGF axis in liver fibrogenesis secondary to hepatic viral infection / D. Tache, Fl. Bogdan, C. Pisoschi et al., Rom J Morphol Embryol., 2011, Vol. 52. (1 Suppl), P. 409 – 412.

10. Ghaleb, H. A. A novel hypothesis for pathophysiology of hepatitis fibrosis in hepatitis C viral infection / H. A. Ghaleb, S. Salah, Hypothesis, 2011, Vol. 9., No.1, P. 1 – 5.

11. Increased TGF- $\beta$ 3 in primary biliary cirrhosis: An abnormality related to pathogenesis? / A. Voumvouraki, M. Koulentaki, M. Tzardi et al., World J. Gastroenterol., 2010, Vol. 16 (40), P. 5057–5064.

12. Investigation of Transforming Growth Factor- $\beta$ 1 Gene Polymorphisms Among Iranian Patients With Chronic Hepatitis C / S. Romani, P. Azimzadeh, S. R. Mohebbi et al., Hepat Mon., 2011, Vol. 11 (11), P. 901-906.

13. Lee, U. E. Mechanisms of Hepatic Fibrogenesis / U.E. Lee, S. L. Friedman, Best Pract Res Clin Gastroenterol., 2011, Vol. 25 (2), P. 195 – 206.

14. Mormone, E. Molecular pathogenesis of hepatic fibrosis and current therapeutic approaches / E. Mormone, J. George, N. Natalia Nieto, Chem Biol Interact., 2011, Vol. 193(3), P. 225–231.

15. The role of plasma transforming growth factor beta-1 in the development of fibrosis in patient with HCV related steatohepatitis / G. M. Soliman, K. A. Mohammed, A. Taha [et al.], J. Egypt. Soc. Parasitol., 2010, Vol. 40, № 3, P. 759-772.

## Рецензенты:

Беседнова Н.Н., д.м.н., профессор ФГБУ «НИИЭМ имени Г.П. Сомова» СО РАМН, г. Владивосток;

Федянина Л.Н., д.м.н., профессор школы биомедицины ДВФУ, г. Владивосток.

Работа поступила в редакцию 24.06.2014