Вирүсийн шалтгаант элэгний архаг үрэвслийн үед элэгний фиброзын зэргийг цусан дах зарим цитокинуудын тусламжтайгаар тодорхойлох нь

Г.Сэржбаяр[1,2], Ө.Болор[2], М.Адилсайхан[3], Б.Батболд[2]

[1]АШУҮИС, АУС, Хавдар судлалын тэнхим
[2]АШУҮИС, Анагаах ухааны хүрээлэн
[3]АШУҮИС, Монгол-Японы сургалтын эмнэлэг
Цахим шуудан: Ganboldserjbayar@gmail.com, Утас: 95039259

Түлхүүр үг:

Элэгний С вирүс
Элэгний фиброз
Цитокин
Интерлейкин-4
Биомаркер

Товч утга:

Үндэслэл: Хүний биеийн вирүсийн халдварын эсрэг, дархлааны хариу урвал, эсийн үрэвсэл, хавдрын эсрэг хариу урвал, эзэн биеийн дархлаа тогтолцооны хариу урвалууд нь дархлааны олон төрлийн эсүүд, элэгний эпителийн эсүүдээс ялгардаг цитокины оролцоотой явагддаг. Цитокин нь жижиг молекулт уураг бөгөөд дархлаа систем ба цусны эсүүдийг дохио дамжуулалтаар идэвхжүүлж байдаг. Элэгний С вирүсийн халдварын шалтгаант элэгний фиброз үүсэхэд зарим цитокинуудын хөдлөл зүй чухал үүрэгтэй оролцож байна хэмээн бид таамаглаж энэхүү судалгааг хийсэн. **Зорилго:** С вирүсийн шалтгаант элэгний архаг үрэвслийн үед элэгний фиброзын зэргийг цусан дахь зарим цитокины түвшингээр тодорхойлох. **Арга, аргачлал:** Энэхүү судалгааг ретроспектив судалгааны загвараар элэгний С вирүсийн архаг халдвартай 92 үйлчлүүлэгчийг судалгааны хамрах болон хасах шалгуурыг баримтлан судалгаанд хамруулсан. Судалгаанд хамрагдсан бүх үйлчлүүлэгчдэд асуумж болон ийлдсэнд интерлейкин-4 цитокин тодорхойлох шинжилгээг хийсэн. Судлагааны үр дүнгийн тоон үзүүлэлтүүдийг боловсруулахдаа SPSS 20.0 статистик программ ашиглан гүйцэтгэсэн. **Үр дүн:** Бидний судалгаанд 92 үйлчлүүлэгч хамрагдсан ба 49(53.3%) эрэгтэй, 43(46.7%) эмэгтэй байлаа. Нийт оролцогчдын дундаж нас 51.9±9.4 жил байсан ба элэгний фиброзын хөнгөн зэрэгтэй бүлэгт дундаж нас 50.4±9.7 жил, хүнд зэрэгтэй бүлэгт 56.3±7.4 жил байсан. Биохимийн шинжилгээн дэх AcAT-ын хэмжээ фиброзын хөнгөн зээргтэй бүлэгт 92.4±55.5 U/L, хүнд зэрэгтэй бүлэгт 120.8±63.2 U/L, харин ферритины түвшин хөнгөн зэрэгтэй бүлэгт 384.1±363.6 ng/mL, хүнд зэрэгтэй бүлэгт 641.0±548.0 ng/mL байсан нь хүнд зэргийн фиброзтой үйлчлүүлэгчид хөнгөн зэргийн фиброзтой үйлчлүүлэгчтэй харьцуулахад лабораторийн шинжилгээний дээрх үзүүлэлтүүд статистикийн магадлалтайгаар өндөр байгаа нь тодорхойлогдсон. Түүнчлэн бидний судалгаанд хөнгөн зэргийн фиброзтой бүлэгт интерлейкин-4 дундаж хэмжээ 309.6±41.5 pg/mL, хүнд зэргийн фиброзтой бүлэгт интерлейкин-4 дундаж хэмжээ 527.6±99.7 pg/mL тодорхойлогдсон. Энэ нь интерлейкин-4 дундаж хэмжээ хөнгөн зэргийн фиброзтой бүлэг болон хүнд зэргийн фиброзтой бүлэг хооронд статистикийн ач холбогдол бүхий ялгаатай (p=0.019) байгааг харуулж байна. **Дүгнэлт:** Элэгний С вирүсийн шалтгаант элэгний архаг үрэвслийн хүнд зэргийн фиброзтой үйлчлүүлэгчдийн сийвэнгийн интерлейкин-4-ийн үзүүлэлтүүд ихэсдэг болох нь тодорхойлогдлоо.

Үндэслэл: Судлаачид одоогийн байдлаар хүний дархлаа зохицуулгад оролцдог 100 гаруй цитокинуудыг тодорхойлоод байна. Цитокинууд нь элэгний эпителийн эсүүд гэх мэт маш олон эсүүдээс ялгардаг ба вирүсийн халдварын эсрэг дархлааны хариу урвал, эсийн үрэвсэл, хавдрын эсрэг гэх мэт эзэн биеийн хариу урвалд олон чухал үүргүүдийг гүйцэтгэдэг[1]. Т-туслах 1 эсийн (T helper cell [Th1]) цитокинууд (interferon gamma [IFN-γ], tumor necrosis factor alpha [TNF-α], ба interleukin [IL]-2) нь эзэн биеийн дархлаа хариу урвалд оролцох үүрэгтэй байдаг бол Th2 цитокинууд (IL-4, IL-5, IL-6, and IL-10) нь үрэвслийн хариу урвал үүсэхийг

хориглох үүрэгтэй байдаг. Элэгний С вирүсийн халдвартай, архаг үрэвсэлтэй үйлчлүүлэгчдийн сийвэнгийн Th2 цитокинуудыг архаг С вирүсийн үрэвсэлгүй үйлчлүүлэгчидтэй харьцуулахад илүү өндөр түвшинд байсан ба интерферон эмчилгээ хийхэд цитокины хэмжээ буурдаг байна[2]. IL-4 ихсэх нь арьсны фиботик эдэд тодорхойлогдсон ба IL-4 нь хүний холбогч фибробласт дах коллагены нийлэгжилтэнд гол үүрэгтэй оролцдог. Түүнчлэн IL-4 нь хүний элгэн дэх stellate эсийн (HSCs) идэвхжилийг өдөөх ба дохио дамжуулсанаар HSC-ээс коллаген нийгжилтийг ихэсгэдэг бөгөөд, транскрипц-6 хамааралт эмгэг жамын урвалыг идэвхжүүлдэг[3]. Мөн IL-4 нь паренхимийн бус элэгний эсээс коллаген нийлэгжихийг идэвхжүүлдэг ажээ[4]. Дэлхий дахины хүн амын 2.5% элэгний С вирүсийн халдвартай бөгөөд, энэ нь олон улсын эрүүл мэндийн тулгамдсан асуудлын нэг хэвээр байна[5]. С вирүсийн шалтгаант элэгний архаг үрэвсэл (chronic hepatitis C) нь элэг гэмтээх гол шалтгаан болдог ба мөн урт хугацааны турш элэгний фиброз, элэгний цирроз ба анхдагч элэгний эсийн хавдар үүсгэх шалтгаан болдог. Элэгний фиброз нь эсийн гаднах матриксд коллаген, эластин, ламинин ба фибронектин зэрэг уургийн нийлэгжилтийг нэмэгдүүлсэнээр хуримтлал үүсч элэгний эс гэмтэж сорвижилт өөрчлөлт үүсэхийг хэлнэ. Элэгний фиброз нөгөөтэйгүүр үргэлжилсэн архаг элэгний эсийн гэмтлийн эдгэрэх, нөхөн сэргэх үйл явц хэмээн үзэх үндэслэлтэй[6]. Элэгний одлог эс (hepatic stellate cell, HSC) нь элгэнд коллаген нийлэгжүүлэгч гол эс бөгөөд фиброгенезийн үйл явцад тун чухал үүрэгтэй. Фиброз үүсэхэд тэнд үрэвслийн эсүүд хуримтлагдаж, цитокинуудыг ялгаруулж, улмаар дархлааны эсүүд HSC-ийг идэвхжүүлэх ба лимфоцитийн нэвчдэс үүсэхэд нөлөөлдөг байна. HSC-ийн идэвхжил болон ялгаран хөгжил нь олон тооны үрэвслийн өмнөх (pro-inflammatory) цитокинуудын ялгаралтыг өдөөдөг юм[9]. Элэгний С вирүсийн цөмийн болон бүтцийн бус уургууд нь HSC-ийг шууд замаар идэвхжүүлдэг ба идэвхтэй болсон HSC нь миофибробласт эс болон ялгаран хөгжиж, эсийн гаднах матрицийг ихэсгэдгээр фиброзын эмгэг жамыг тайлбарлаж байна[8]. Элэгний С вирүсийн халдвартай өвчтөнд фиброз үүсэхэд эдгээр цитокинуудын хөдлөл зүй чухал үүрэгтэй оролцож байна гэж бид таамаглаж нь энэхүү судалгааг хийх үндэслэл боллоо.

Арга, аргачлал: Бид энэхүү судалгааг элэгний С вирүсийн архаг халдвартай нийт 92 үйлчлүүлэгчийг хамруулан ретроспектив судалгааны загвараар судалгааны хасах болон хамруулах шалгуурыг баримтлан хийж гүйцэтгэсэн бөгөөд судалгааны ажлын ёс зүйг АШУҮИС-ийн Судалгааны ёс зүйн хяналтын хорооноос зөвшөөрөл авсны үндсэн дээр хийж гүйцэтгэв (2021.05.22, Протокол №2021/3-06). Бид цусны ийлдэс дэх цитокины түвшинг тодорхойлохдоо Флюресцент Bead (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA, 2008) ашиглан үйлдвэрлэгчийн зааврын дагуу хийж гүйцэтгэсэн. Цитокин тодорхойлох шинжилгээг фермент холбох урвал (ELISA-enzyme linked immunosorbent assay)-ын аргаар IL-4 цитокин тодорхойлох цомгийг ашиглан заавар протоколын дагуу тодорхойлсон. Цитокины концентрацийг тодорхойлохдоо стандартын янз бүрийн лавлах стандартын муруйг ашиглан тооцоолсон. Сорьц тус бүрт гурван удаа шинжилгээ хийж дундажийг тооцсон. Student t, X^2 тест болон Fisher's тестийг тасралтгүй хувьсагчдыг харьцуулах болон категорийн хувьсагчуудыг үнэлэхэд ашигласан. Олон хувьсагчтай логистик регрессийн тестийг элэгний фиброзыг урьдчилан таамаглах гол хүчин зүйлүүдийг тодорхойлоход ашигласан. $P<0.05$ утгыг статистик ач холбогдолтой гэж үзсэн. Судлагааны үр дүнгийн тоон үзүүлэлтүүдийг боловсруулахдаа SPSS 20.0 статистик программ ашиглан гүйцэтгэсэн.

Үр дүн: Судалгаанд хамрагдсан нийт 92 үйлчлүүлэгчийн 49(53.3%) эрэгтэй, 43(46,7%) эмэгтэй байсан ба дундаж нас 51.9±9.4 жил байлаа. Нийт хамрагдсан үйлчлүүлэгчдийг элэгний фиброзын хөнгөн болон хүнд зэрэг болгон 2 бүлэгт хуваахад 23 (25%) нь хүнд зэргийн элэгний фиброзтой байсан. Элэгний фиброзын хөнгөн зэрэгтэй бүлэгт дундаж нас 50.4±9.7 жил, хүнд зэрэгтэй бүлэгт 56.3±7.4 жил байсан. Биохимийн шинжилгээн дэх АсАТ-ын хэмжээ фиброзын хөнгөн зэрэгтэй бүлэгт 92.4±55.5 U/L, хүнд зэрэгтэй бүлэгт 120.8±63.2 U/L байсан ба ферритины түвшин хөнгөн зэрэгтэй бүлэгт 384.1±363.6 ng/mL, хүнд зэрэгтэй бүлэгт 641.0±548.0 ng/mL байлаа. Хүнд зэргийн фиброзтой үйлчлүүлэгчид хөнгөн зэргийн фиброзтой үйлчлүүлэгчтэй харьцуулахад лабораторийн шинжилгээний эдгээр үзүүлэлтүүд өндөр байгаа нь тодорхойлогдсон.

Түүнчлэн бидний судалгаанд хөнгөн зэргийн фиброзтой бүлэгт IL-4 дундаж хэмжээ 309.6±41.5 pg/mL, хүнд зэргийн фиброзтой бүлэгт IL-4 дундаж хэмжээ 527.6±99.7 pg/mL байгаа нь тодорхойлогдсон. Энэ нь IL-4 дундаж хэмжээ хөнгөн зэргийн фиброзтой бүлэг болон хүнд зэргийн фиброзтой бүлэг хооронд статистикийн ач холбогдол бүхий ялгаатай ($p=0.019$) байлаа. Бид суурь IL-4-ийн хамгийн оновчтой түвшинг ROC муруйг ашиглан 490 pg/mL байгааг олж тодорхойлсон ба AUC нь 0.659 (95% CI=0.512-0.806, $p=0.041$) байлаа. Дээрх AUC-ийн аргаар нас (≥45 эсвэл ≤45 жил), цусны АсАТ-ын түвшин (≥80 эсвэл ≤80 U/L), ферритины түвшин (≥450 эсвэл ≤450 ng/mL) ба ялтас эсийн тоо (≥100 эсвэл ≤100×10^9/L) зэрэг хувьсагчдын хамгийн оновчтой утгыг олж тогтоосон. Сийвэнгийн IL-4-ийн хэмжээ бага байгаа үйлчлүүлэгчидтэй, IL-4-ийн хэмжээ өндөр байгаа үйлчлүүлэгч (≥490 pg/mL)-үүдийг харьцуулахад хүнд зэргийн элэгний фиброзтой үйлчлүүлэгчийн тоо их байх хандлагатай байв.

Олон хувилбарт анализаар IL-4-ийн түвшин нь элэгний хүнд зэргийн фиброзын бие даасан хүчин зүйл мөн (тохируулсан odds ratio [OR]=4.34, 95% CI=1.11-16.8, $p=0.034$) болохыг илрүүлсэн. Гэсэн хэдий ч хүнд болон хөнгөн зэргийн фиброзтой 2 бүлэгт X^2 хамааралт ба олон хувилбарт логистик регрессийн анализаар цусан дах АлАТ-ын ялгаа илт мэдэгдэхүйц өөр байсныг илрүүлсэн. Дээрх 2 бүлэгт нас, ялтас эсийн тоо болон ферритиний түвшингийн статистик ач холбогдолтой хамаарал тодорхойлогдоогүй.

Хэлцэмж: Дэлхий дахинд элэгний С вирүсын халдвартай өвчтөнд элэгний фиброзын зэргийг таамаглах инвазив бус маркеруудын талаар хэлэлцсэн олон судалгааны ажлууд хийгдсээр ирсэн олон тооны баримт байна. Судлаач Bedossa P, Dargere D, Paradis V нарын 2003 оны "Элэгний С вирүсын архаг халдвартай өвчтөнүүдийн элэгний фиброзын тархалтын судлагаа"-нд нас болон цусан дахь АлАТ-ын хэмжээ нэмэгдэх нь хүнд зэргийн фиброзтой холбоотой байна[9] гэсэн нь бидний судлагаатай дүйж байна. Түүнчлэн Хятадын судлаач Yang JF, Lin CI, Huang JF, Dai CY, Lin WY, Ho CK нарын 2010 оны "Тайван улсын хүн амын дундах вирүсийн шалтгаант элэгний үрэвслийн тархалтын судалгаа"-нд ийлдсэн дэх ферритины хэмжээ нэмэгдэх нь С вирусын шалтгаант архаг үрэвсэлтэй өвчтөнүүдийн хүнд хэлбэрийн фиброзыг урьдчилан таамаглах гол хувьсуур болдогийг харуулсан[10] судалгааны үр дүн бидний судлагааны үр дүнтэй мөн дүйж байна. Японы судлаач Sugimoto R, Enjoji M, Nakamuta M, Ohta S, Kohjima M, Fukushima M нарын 2005 оны "Элэгний одлог эсийг IL-4 болон IL-13 цитокиноор өдөөж коллагены нийлэгжилтыг судалсан In vitro судлагаа"-нд IL-4 нь in vitro нөхцөлд паренхимийн бус элэгний эсүүдээр коллагены нийлэгжилтийг сайжруулж[11] байгаа үр дүн бидний судалгааны үр дүнтэй уялдаж байна. Түүнчлэн Германы судлаач Reiser M, Marousis CG, Nelson DR, Lauer G, González-Peralta RP, Davis GL нарын 1997 оны "Элэгний архаг С вирүсийн халдвартай эмчлүүлэгчдийн сийвэн дэх IL-4 ба IL-10 хэмжээг судалсан судлагаа"-нд ийлдсэн дэх IL-4 хэмжээ С вирүсын шалтгаант элэгний архаг үрэвсэлтэй үйлчлүүлэгчид эрүүл бүлэгтэй харьцуулахад өндөр байсан[12] үр дүн нь бидний судалгаатай мөн ойролцоо байна.

Дүгнэлт: Элэгний С вирүсийн шалтгаант элэгний архаг үрэвслийн хүнд зэргийн фиброзтой үйлчлүүлэгчид сийвэнгийн IL-4-н үзүүлэлтүүд ихэсч байгаа нь элэгний фиброзын хүнд болон хөнгөн зэрэгтэй холбоотой гэж үзэж байна.

Ном зүй:

1. *Antonelli A, Ferrari SM, Ruffilli I, Fallahi P. Cytokines and HCV-related autoimmune disorders. Immunologic research. 2014;60(2-3):311-9. Epub 2014/11/10. doi: 10.1007/s12026-014-8569-1. PubMed PMID: 25381483.*
2. *Cacciarelli TV, Martinez OM, Gish RG, Villanueva JC, Krams SM. Immunoregulatory cytokines in chronic hepatitis C virus infection: pre- and posttreatment with interferon alfa. Hepatology (Baltimore, Md). 1996;24(1):6-9. Epub 1996/07/01. doi: 10.1002/hep.510240102. PubMed PMID: 8707283.*
3. *Sugimoto R, Enjoji M, Nakamuta M, Ohta S, Kohjima M, Fukushima M, et al. Effect of IL-4 and IL-13 on collagen production in cultured LI90 human hepatic stellate cells. Liver international : official journal of the International Association for the Study of the Liver. 2005;25(2):420-8. Epub 2005/03/23. doi: 10.1111/j.1478-3231.2005.01087.x. PubMed PMID: 15780068.*
4. *Aoudjehane L, Pissaia A, Jr., Scatton O, Podevin P, Massault PP, Chouzenoux S, et al. Interleukin-4 induces the activation and collagen production of cultured human intrahepatic fibroblasts via the STAT-6 pathway. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology. 2008;88(9):973-85. Epub 2008/07/16. doi: 10.1038/labinvest.2008.61. PubMed PMID: 18626468.*
5. *Petruzziello A, Marigliano S, Loquercio G, Cozzolino A, Cacciapuoti C. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. World J Gastroenterol. 2016;22(34):7824-40. Epub 2016/09/30. doi: 10.3748/wjg.v22.i34.7824. PubMed PMID: 27678366; PubMed Central PMCID: PMCPMC5016383.*
6. *Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. The Journal of clinical investigation. 2005;115(2):209-18. Epub 2005/02/04. doi: 10.1172/jci24282. PubMed PMID: 15690074; PubMed Central PMCID: PMCPMC546435.*
7. *Asrani SK. Incorporation of Noninvasive Measures of Liver Fibrosis Into Clinical Practice: Diagnosis and Prognosis. Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association. 2015;13(12):2190-204. Epub 2015/08/01. doi: 10.1016/j.cgh.2015.07.030. PubMed PMID: 26226095.*
8. *Sebastiani G, Gkouvatsos K, Pantopoulos K. Chronic hepatitis C and liver fibrosis. World J Gastroenterol. 2014;20(32):11033-53. Epub 2014/08/30. doi: 10.3748/wjg.v20.i32.11033. PubMed PMID: 25170193; PubMed Central PMCID: PMCPMC4145747.*
9. *Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. Hepatology 2003;38:1449–57*
10. *Yang JF, Lin CI, Huang JF, Dai CY, Lin WY, Ho CK, et al. Viral hepatitis infections in Southern Taiwan: a multicenter community-based study. Kaohsiung J Med Sci 2010;26:461–9.*
11. *Sugimoto R, Enjoji M, Nakamuta M, Ohta S, Kohjima M, Fukushima M, et al. Effect of IL-4 and IL-13 on collagen production in cultured LI90 human hepatic stellate cells. Liver Int 2005;25:420–8*
12. *Reiser M, Marousis CG, Nelson DR, Lauer G, González-Peralta RP, Davis GL, et al. Serum interleukin 4 and interleukin 10 levels in patients with chronic hepatitis C virus infection. J Hepatol 1997;26:471–8.*

Serum some cytokine's level predicted advanced fibrosis in chronic hepatitis C patients

Serjbayar G[1,2], Bolor U[2], Adilsaikhan M[3], Batbold B[2]

[1]Department of Oncology, School of medicine, MNUMS
[2]Institute of medical science, MNUMS
[3]Mongolian-Japan teaching hospital, MNUMS
E-mail: Ganboldserjbayar@gmail.com, Tel: 95039259

Background: The human body's response to viral infections, immune responses, cellular inflammation, anti-cancer responses, and the host immune system's response are mediated by cytokines secreted by variety of immune cells and liver epithelial cells. Various cytokine dynamics has been associated with chronic hepatitis C virus (HCV) infection. Cytokines are small proteins that are crucial in controlling the growth and activity of other immune system cells and blood cells. We hypothesized that cytokines have an important role in fibrosis development in HCV infection.
Material and methods: Data of 92 patients were analyzed retrospectively. We examined cytokines IL4 in this study. Various statistical analyses were used as appropriate. All statistical analyses were performed using the SPSS 20.0.
Results: Of the 92 HCV-infected patients, 49 (53.3%) were male, 23 (25%) patients had advanced (fibrosis grades 3-4) fibrosis. Age (mean±SD of 56.3±7.4 vs 50.4±9.7 years, p=0.009), GOT level (mean±SD of 120.8±63.2 vs 92.4±55.5 U/L, p=0.048), and ferritin level (mean±SD of 641.0±548.0 vs 384.1±363.6 ng/mL, p=0.013) were significantly higher in the advanced fibrosis group than in the mild fibrosis group, while platelet level mean±SD of 153.2±48.5 vs 184.5±61.6 × 109/L, p=0.030) was lower in the advanced fibrosis group. Elevation of baseline IL-4 level (>490 pg/mL) was associated with liver fibrosis grade by $\chi 2$ test (odds ratio [OR]=2.99; 95%, CI=1.02-8.78; p=0.042) and multivariate logistic regression (OR=4.26; 95% CI=1.13-16.02; p=0.032).
Conclusion: This study provides evidence that increased IL-4 expression predicted advanced liver fibrosis in treatment of naïve HCV-infected patients.

Keywords: HCV; liver fibrosis; Cytokines; Interleukin 4; biomarker