

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ФОРМИРОВАНИИ И ПРОГРЕССИРОВАНИИ ФИБРОЗА ПРИ АЛКОГОЛЬНОМ ГЕПАТИТЕ

Кляритская И. Л., Стилиди Е. И.

ФПО Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского

Стилиди Елена Игоревна

E-mail: aleandreeva1@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: оценить влияние фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) и интерлейкина 6 (ИЛ-6) на прогноз и исход алкогольного гепатита (формирование фиброза).

Материал и методы. Исследовали 48 больных алкогольным гепатитом (АГ). Контрольную группу составили 25 здоровых доноров. У 15 больных АГ проведено морфологическое изучение биоптатов печени и ^{13}C -метацетиновый дыхательный тест. Иммуноферментным методом с использованием коммерческих тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест» определяли в сыворотке крови концентрацию ФНО- α , ИЛ-6 и С-реактивного белка (СРБ).

Результаты исследования. У больных АГ достоверно повышалась концентрация ФНО- α , ИЛ-6 и СРБ по сравнению с таковой у здоровых лиц. Получены достоверные корреляции между стадией фиброза и ФНО- α ($r = 0,53$; $p < 0,01$), ИЛ-6 ($r = 0,62$; $p < 0,01$); ИГА и ФНО- α ($r = 0,58$; $p < 0,05$), ИЛ-6 ($r = 0,64$; $p < 0,01$); результатами ^{13}C -МДТ и ФНО- α ($r = -0,72$; $p < 0,01$), ИЛ-6 ($r = -0,73$; $p < 0,01$); АлАТ и ФНО- α ($r = 0,61$; $p < 0,01$), ИЛ-6 ($r = 0,54$; $p < 0,01$); АсАТ и ФНО- α ($r = 0,64$; $p < 0,01$), ИЛ-6 ($r = 0,65$; $p < 0,01$); ГГТП и ФНО- α ($r = 0,46$; $p < 0,01$), ИЛ-6 ($r = 0,48$; $p < 0,01$).

Выводы. Сывороточные уровни ФНО- α и ИЛ-6 обладают прогностической значимостью для развития воспаления и фиброза печени у больных АГ и могут быть использованы в качестве неинвазивных маркеров фиброза.

Ключевые слова: алкогольный гепатит; цитокины; фиброз печени

SUMMARY

Aim of investigation: to study the effect of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and interleukin 6 (IL-6) on prognosis and outcome of alcoholic hepatitis (formation of fibrosis).

Methods. Overall 48 patients with alcoholic hepatitis (AH) were investigated. The control group consisted of 25 healthy donors. Morphological study of liver biopsies and ^{13}C -methacetin breath test (^{13}C MBT) was carried out at 15 patients with AH. Concentration of TNF- α , IL-6 and C-reactive protein (CRP) in blood serum was detected by immunoenzyme assay with application of commercial tests-systems *Vector-Best*.

Study results. At patients with AH TNF- α , IL-6 and CRP significantly increased in comparison to healthy persons. We found a significant correlation between fibrosis stage and TNF- α ($r = 0.53$; $p < 0.01$), IL-6 ($r = 0.62$; $p < 0.01$), the Knodell Histological Activity Index and TNF- α ($r = 0.58$, $p < 0.05$), IL-6 ($r = 0.64$; $p < 0.01$), the results of ^{13}C MBT and TNF- α ($r = -0.72$; $p < 0.01$), IL-6 ($r = -0.73$; $p < 0.01$), alanine aminotransferase and TNF- α ($r = 0.61$; $p < 0.01$), IL-6 ($r = 0.54$; $p < 0.01$), aspartate aminotransferase and TNF- α ($r = 0.64$; $p < 0.01$), IL-6 ($r = 0.65$; $p < 0.01$), gamma-glutamyl transpeptidase and TNF- α ($r = 0.46$; $p < 0.01$), IL-6 ($r = 0.48$; $p < 0.01$).

Conclusions. Serum TNF- α and IL-6 have predictive value for development of inflammation and fibrosis in patients with AH and can be used as non-invasive markers of fibrosis.

ВВЕДЕНИЕ

Алкогольная болезнь печени (АБП) является основной причиной хронических заболеваний печени во всем мире, приводящей к фиброзу, циррозу печени и гепатоцеллюлярной карциноме [1].

По данным литературы, при употреблении спиртных напитков в опасных количествах цирроз печени развивается в 7–41% случаев [2–4]. Прием спиртного, даже в течение короткого периода, может приводить к развитию жировой инфильтрации печени. Данная патология развивается приблизительно у 90% лиц, которые употребляют около 60 г этанола в сутки [2], и приводит в 5–15% случаев к прогрессированию фиброза с последующей трансформацией в цирроз [5]. У части пациентов, продолжающих прием алкоголя в опасных дозах, развивается алкогольный гепатит (АГ), который у 18% больных трансформируется в цирроз печени [2]. Частота АГ составляет 10–35% среди госпитализированных больных с АБП [6; 7].

Несмотря на то что проблеме АБП в медицинской литературе посвящено большое количество публикаций, теоретический и практический интерес к данной патологии остается чрезвычайно высоким из-за высокой медико-социальной значимости и открытых вопросов патогенеза этого заболевания.

Согласно современным данным, секреция большого количества провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α) и интерлейкин-6 (ИЛ-6), служит основным патогенетическим звеном в развитии АБП [8]. В исследованиях было показано, что алкоголь может увеличить чувствительность печени к ФНО- α двумя способами. Во-первых, алкоголь прямо или косвенно может стимулировать продукцию ФНО- α клетками Купфера. Во-вторых, алкоголь может увеличить чувствительность гепатоцитов к ФНО- α [9]. Данный цитокин повышает метаболизм в гепатоцитах, что может привести к увеличению продукции активных форм кислорода (АФК) в митохондриях. АФК, в свою очередь, способны активировать регуляторный белок, называемый ядерным фактором κ B (NF κ B), который контролирует деятельность многочисленных генов, включая те, которые кодируют ФНО- α и один из его рецепторов, а также гены, кодирующие белки, способствующие апоптозу. Таким образом, в гепатоцитах создается порочный круг: ФНО- α способствует продукции АФК, АФК активизируют NF κ B, и NF κ B приводит к увеличению продукции дополнительного ФНО- α и его рецепторов, а также к продукции факторов, которые способствуют апоптозу. Этот цикл приводит к изменению структуры гепатоцитов, нарушает их функцию и может привести к апоптозу [10; 11].

Употребление алкоголя приводит к изменению состава кишечной флоры [12], увеличивает проницаемость кишечника и транслокацию бактериальных липополисахаридов (ЛПС) из кишечника

в печень [13]. Эти изменения способствуют повышению уровня ЛПС, которые в клетках Купфера взаимодействуют с TLR4, активируя MyD88 — независимые (TRIF/IRF-3) сигнальные пути, что приводит к окислительному стрессу, производству провоспалительных цитокинов, включая ФНО- α , и являются причиной гепатоцеллюлярного повреждения [14; 15]. Употребление алкоголя также активизирует комплемент C3 и C5, который впоследствии приводит к продукции ФНО- α и ИЛ-6, увеличивая повреждение гепатоцитов [16; 17].

Учитывая все вышесказанное, представляется актуальным исследование взаимосвязи сыровоточных уровней провоспалительных цитокинов с различными клиническими, лабораторными и гистологическими показателями больных АГ.

Цель работы: оценить влияние ФНО- α и ИЛ-6 на прогноз и исход АГ (формирование фиброза), а также в дальнейшем разработать терапевтические стратегии для коррекции этого процесса на ранних стадиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находилось 48 больных с АГ, проходивших обследование и лечение в гастроэнтерологическом отделении Республиканской клинической больницы им. Н. А. Семашко г. Симферополя в период с 2009–2012 годы. В числе обследуемых были 31 (64,6%) мужчина и 17 (35,4%) женщин в возрасте от 18 до 76 лет (средний возраст $46,25 \pm 1,95$ года).

Клинический диагноз АГ устанавливался на основании данных анамнеза, результатов лабораторно-инструментальных методов исследования, в том числе путем исключения вирусных, неалкогольных, аутоиммунных и наследственных заболеваний печени.

В пользу наличия у пациента алкогольной болезни печени свидетельствовали:

- анамнестические сведения, полученные от пациента и/или его близких о систематическом приеме алкоголя в клинически значимых дозах: больше 20 г этилового спирта в день для женщин и свыше 30 г этилового спирта в день для мужчин на протяжении не менее 5 лет;
- данные объективного обследования: внешние стигмы систематического приема алкоголя (контрактура Дююитрена, расширение капилляров лица, гинекомастия и т.п.), гепатомегалия и болезненность печени при пальпации;
- данные лабораторных исследований: коэффициент де Ритиса больше 2, повышение уровня маркеров цитолиза (аланинаминотрансфераза — АлАТ, аспаратаминотрансфераза — АсАТ, гамма-глутамилтранспептидаза — ГГТП);
- морфологическая характеристика биоптата печени: баллонная дистрофия гепатоцитов,

крупнокапельный либо мелкокапельный стеатоз, присутствие полиморфноядерных лейкоцитов в воспалительном инфильтрате, тельца Мэллори в цитоплазме гепатоцитов, центрлобулярный, перивенулярный фиброз.

Тяжесть течения АГ оценивалась с помощью индекса Maddrey.

Критерии включения в исследование:

- мужчины и женщины в возрасте ≥ 18 лет с диагнозом хронический алкогольный гепатит;
- отсутствие наследственных заболеваний печени (болезни Коновалова — Вильсона, гемохроматоза, дефицита $\alpha 1$ -антитрипсина);
- отрицательный результат ПЦР ДНК HBV и РНК HCV в сыворотке крови;
- отрицательный результат ИФА крови на маркеры аутоиммунных гепатитов.

Критерии исключения из исследования:

- пациенты с установленным диагнозом аутоиммунного поражения печени, неалкогольного стеатогепатита, хронических вирусных гепатитов В и С;
- прием препаратов, которые обладают гепатотоксичным действием;
- наличие сопутствующих заболеваний в стадии декомпенсации;
- индекс Maddrey > 32 ;
- пациенты с ВИЧ-инфекцией;
- беременность, период лактации;
- отсутствие комплаенса.

Программа обследования пациентов включала: оценку жалоб и анамнестических сведений с детальным анализом медицинской документации; физикальный осмотр; общеклиническое исследование периферической крови; исследование биохимических показателей крови, характеризующих функциональное состояние печени; определение маркеров аутоиммунных гепатитов методом ИФА; определение ДНК HBV и РНК HCV в сыворотке крови методом ПЦР; ультразвуковое исследование органов брюшной полости; определение содержания провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-6) и С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови; чрескожную пункционную биопсию печени; ^{13}C -метацетиновый дыхательный тест (^{13}C -МДТ).

При сборе анамнеза использовался опросник GAGE [18]. Для пациентов, которые по результатам тестирования на опроснике GAGE были отнесены в группу риска, был использован опросник AUDIT [19].

Контрольную группу составили 25 практически здоровых лиц в возрасте от 18 до 63 лет (средний возраст $38,72 \pm 2,53$ года), у которых при полном клиническом и лабораторном обследовании не было обнаружено патологии печени. Мужчин 15 (60%) человек, женщин — 10 (40%) человек.

Уровень ФНО- α , ИЛ-6 и СРБ определяли в сыворотке крови больных иммуноферментным методом

с использованием тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест». Постановка всех реакции осуществлялась в соответствии с инструкциями фирмы-производителя. За норму указанных показателей иммунного статуса были приняты результаты обследования 25 практически здоровых лиц.

Анализ морфологических данных проведен у 15 больных на биопсийном материале печени. В соответствии с общепринятыми критериями оценки повреждения печени по R. G. Knodell (1981) минимальная степень активности патологического процесса была установлена в 33,3% случаев, слабая — в 33,3%. В 26,7% случаев изменения в печени соответствовали умеренной степени активности, в 6,7% активность была выраженной. При оценке выраженности фиброзных изменений с использованием системы METAVIR (1996) были обнаружены следующие результаты: у 7 (46,7%) пациентов фиброз отсутствовал (F0), у 3 больных (20%) наблюдалась 1-я стадия фиброза (F1), у 2 больных (13,3%) — 2-я стадия (F2), у 3 больных (20%) — 3-я стадия (F3). F4 у обследованных пациентов выявлена не была.

С целью определения массы функционирующих гепатоцитов (МФГ) и выявления нарушений функции печени 15 пациентам был проведен ^{13}C -МДТ. Интерпретация результатов осуществлялась по суммарной концентрации $^{13}\text{CO}_2$ к 120-й минуте:

20–35 — показатели функции печени в пределах нормы (при МФГ 100%).

10–20 — умеренное нарушение функции печени без цирротических изменений (при МФГ 50–100%).

2–10 — выраженное нарушение функции печени с цирротическими изменениями (при МФГ 20–50%).

2 < — тяжелое нарушение функции печени с цирротическими изменениями (при МФГ менее 20%).

Все показатели приведены в единицах СИ и представлены в $M \pm m, p$. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программного пакета *Statistica 6*.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Больные предъявляли жалобы на общую слабость, быструю утомляемость, дискомфорт, тяжесть в правом подреберье.

При оценке результатов клинического осмотра в объективном статусе пациентов наиболее характерным клиническим признаком была гепатомегалия, определяемая при ультразвуковом исследовании у 45 (93,75%) пациентов.

В табл. 1 приведены биохимические и иммунологические показатели крови исследуемых пациентов и группы контроля.

У обследованных больных наблюдалось повышение уровня сывороточных трансаминаз (АлАТ — $1,17 \pm 0,10$ ммоль/л, АсАТ — $2,52 \pm 0,19$ ммоль/л),

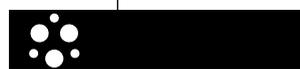


Таблица 1

БИОХИМИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ИССЛЕДУЕМЫХ БОЛЬНЫХ И ГРУППЫ КОНТРОЛЯ ($M \pm m$)		
Показатели	Больные АГ ($n = 48$)	Контрольная группа ($n = 25$)
АлАТ, моль/л	1,17 ± 0,10**	0,36 ± 0,03
АсАТ, моль/л	2,52 ± 0,19**	0,29 ± 0,03
Билирубин общ., ммоль/л	17,63 ± 1,35	14,91 ± 0,62
ГГТП, е/л	229,3 ± 22,37**	24,68 ± 1,74
Общий белок, г/л	76,7 ± 1,17	78,16 ± 1,13
Альбумин, %	48,2 ± 0,82*	63,04 ± 0,77
ПТИ, %	71,2 ± 1,12*	93,72 ± 1,02
Общий холестерин, ммоль/л	5,82 ± 0,20*	4,72 ± 0,18
СРБ, г/л	14,67 ± 0,63**	0,46 ± 0,08
ИЛ-6, пг/мл	63,54 ± 5,29**	15,4 ± 1,72
ФНО-α, пг/мл	74,56 ± 6,35**	18,69 ± 2,03

Примечание: вероятность различий с показателями контрольной группы: * — при $p < 0,05$; ** — при $p < 0,01$.

Таблица 2

КОЭФИЦИЕНТЫ КОРРЕЛЯЦИИ МЕЖДУ ЛАБОРАТОРНЫМИ И МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ, ПОКАЗАТЕЛЯМИ ¹³ С-МЕТАЦЕТИНОВОГО ДЫХАТЕЛЬНОГО ТЕСТА И УРОВНЕМ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ АГ		
Показатели	ФНО-α	ИЛ-6
ИГА	0,58**	0,64*
Стадия фиброза	0,53*	0,62*
¹³ С-МДТ	-0,72*	-0,73*
АлАТ	0,61*	0,54*
АсАТ	0,64*	0,65*
Коэффициент Де Ритиса	0,2	0,41*
ГГТП	0,46*	0,48*
Билирубин	0,24	0,14
Альбумин	-0,42*	-0,31**
ПТИ	-0,36**	0,34**
СРБ	0,88*	0,73*

Примечание: * — уровень значимости $p < 0,01$; ** — уровень значимости $p < 0,05$.

Таблица 3

КОНЦЕНТРАЦИЯ ФНО-А И ИЛ-6 В ГРУППАХ ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АГ, СТАДИЕЙ ФИБРОЗА И ПОКАЗАТЕЛЯМИ ¹³ С-МДТ ($n = 15$), $M \pm m$		
Показатели	ФНО-α, пг/мл	ИЛ-6, пг/мл
Степень гистологической активности по R.G. Knodell	минимальная степень активности	68,96 ± 24,19
	низкая степень активности	54,4 ± 19,15
	умеренная степень активности	75,26 ± 26,89
	высокая степень активности	53,88 ± 15,52
Фиброз	F0 METAVIR	101,28 ± 31,84
	F1 METAVIR	185,8
	F2 METAVIR	123,4
	F3 METAVIR	37 ± 4,58
¹³ С-МДТ	нормальная функция печени (МФГ = 100%)	30,34 ± 2,53
	нарушенная функция печени (МФГ менее 100%)	78,53 ± 13,05
		62,4 ± 9,87
		115,9 ± 13,3
		109,33 ± 7,03
		51,89 ± 9,67
		158,62 ± 15,54
		42,28 ± 7,69
		107,32 ± 8,85

ГГТП ($229,3 \pm 22,37$ е/л), гипоальбуминемия ($48,2 \pm 0,82\%$). При этом активность ГГТП значительно превышала активность трансаминаз, что не противоречит данным литературы [4]. У 12 (25%) больных наблюдалась гипербилирубинемия, в большинстве случаев уровень билирубина не превышал 1,5 нормы. Средние значения показателей индекса Maddrey составили $24,77 \pm 0,74$ (от 16,4 до 31,8), коэффициента де Ритиса — $2,26 \pm 0,03$.

При исследовании уровня цитокинов было установлено, что содержание ФНО- α и ИЛ-6 было повышено у всех больных. Среднее значение ФНО- α в группе АГ составило $74,56 \pm 6,35$ пг/мл (от 30,6 до 185,8 пг/мл), что достоверно ($p < 0,01$) повышено по сравнению с соответствующим значением контрольной группы. У большинства пациентов — 64,6% — повышение было значительным (в 2–5 раз по сравнению с контрольной группой), у 22,9% наблюдалась выраженная гиперпродукция ФНО- α (в 5–10 раз по сравнению с контрольной группой) и только у 12,5% — умеренное повышение (не более чем в 2 раза по сравнению с контрольной группой).

Средний уровень ИЛ-6 в сыворотке крови 48 больных АГ составил $63,54 \pm 5,29$ пг/мл (от 21,6 до 159,1 пг/мл), что достоверно ($p < 0,01$) превышает этот показатель в группе контроля ($15,4 \pm 1,72$ пг/мл). Среди больных с повышенным уровнем ИЛ-6 в сыворотке крови у большинства — 52,1% — повышение было значительным (в 2–5 раз по сравнению с контрольной группой), у 31,2% наблюдалась выраженная гиперпродукция ИЛ-6 (в 5–10 раз по сравнению с контрольной группой) и у 16,7% — умеренное повышение (до 2 раз по сравнению с контрольной группой).

Уровень СРБ был достоверно ($p < 0,01$) выше, чем в группе контроля: $14,67 \pm 0,63$ и $0,46 \pm 0,08$ г/л соответственно.

На рис. 1 представлена зависимость сывороточной концентрации ФНО- α , ИЛ-6 и СРБ от активности АлАт у больных АГ.

Как видно из графика, у пациентов со значением АлАт более 3 норм были зафиксированы наиболее высокие концентрации ФНО- α ($152,9 \pm 30,5$ пг/мл) и ИЛ-6 ($123,1 \pm 20,5$ пг/мл). На фоне низкой активности АлАт (до 1,5 нормы) также наблюдается значительная продукция провоспалительных цитокинов: средние значения ФНО- α составили $62,01 \pm 7,96$ пг/мл, ИЛ-6 — $46,52 \pm 5,02$ пг/мл. Сходная тенденция была выявлена для СРБ. Средние значения последнего составили: $13,03 \pm 0,61$ г/л при уровне АлАт до 1,5 нормы; $15,03 \pm 0,65$ г/л при уровне АлАт до 3 норм; $23 \pm 1,5$ г/л при уровне АлАт более 3 норм.

В табл. 2 приведены коэффициенты корреляции между лабораторными и морфологическими параметрами, показателями ^{13}C -метацетинового дыхательного теста и уровнем сывороточных цитокинов у больных АГ.

По данным статистического анализа, ФНО- α имеет прямую корреляционную связь с АлАт ($r = 0,61$; $p < 0,01$), АсАт ($r = 0,64$; $p < 0,01$), ГГТП ($r = 0,46$;

$p < 0,01$), СРБ ($r = 0,88$; $p < 0,01$), ИГА ($r = 0,58$; $p < 0,05$), стадией фиброза ($r = 0,53$; $p < 0,01$) и обратную корреляционную связь с уровнем альбумина ($r = -0,42$; $p < 0,01$) и ПТИ ($r = -0,36$; $p < 0,05$).

ИЛ-6 достоверно коррелирует с АлАт ($r = 0,54$; $p < 0,01$), АсАт ($r = 0,65$; $p < 0,01$), ГГТП ($r = 0,48$; $p < 0,01$), СРБ ($r = 0,73$; $p < 0,01$), ИГА ($r = 0,64$; $p < 0,01$), стадией фиброза ($r = 0,62$; $p < 0,01$), уровнем альбумина ($r = -0,31$; $p < 0,01$), ПТИ ($r = -0,34$; $p < 0,05$). Также была обнаружена прямая корреляционная взаимосвязь между коэффициентом Де Ритиса и ИЛ-6 ($r = 0,41$; $p < 0,01$).

В ходе исследования была изучена взаимосвязь провоспалительных цитокинов с показателями ^{13}C -МДТ, отражающими процент функционирующих гепатоцитов. На рис. 2 показана полученная обратная корреляционная связь между изучаемыми цитокинами и результатами ^{13}C -МДТ ($r = -0,72$; $p < 0,01$ для ФНО- α и $r = -0,73$; $p < 0,01$ для ИЛ-6).

Полученные данные позволяют сделать вывод, что уровень ФНО- α и ИЛ-6 у больных АГ отражает степень нарушения функции печени и ассоциирован с количеством функционирующих гепатоцитов по данным ^{13}C -МДТ.

Исходя из цели исследования, было изучено влияние изучаемых цитокинов на формирование фиброза. На рис. 3 представлена корреляция между уровнем ФНО- α , ИЛ-6 и стадией фиброза.

В табл. 3 приведена концентрация ФНО- α и ИЛ-6 ($M \pm m$) в группах пациентов с различной степенью гистологической активности АГ, стадией фиброза и показателями ^{13}C -МДТ. Особого внимания заслуживает рост концентрации провоспалительных цитокинов по мере прогрессирования фиброза, увеличения степени гистологической активности и ухудшения показателя ^{13}C -МДТ. Как видно из данных табл. 3, у больных АГ усиление степени гистологической активности ассоциировано с возрастанием сывороточной концентрации ФНО- α и ИЛ-6.

В зависимости от стадии фиброза (F1–F3) уровень ИЛ-6 в сыворотке крови больных достоверно возрастал от $62,4 \pm 9,87$ до $109,33 \pm 7,03$ пг/мл. В случае с ФНО- α также было отмечено плавное повышение концентрации по мере прогрессирования фиброза. Следует заметить, что у пациентов с F0 уровень данных цитокинов значительно ниже, чем при F1–F3.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты свидетельствуют об увеличении в сыворотке крови концентрации провоспалительных цитокинов ФНО- α и ИЛ-6 у больных АГ, что согласуется с мнением других исследователей [1; 8; 20; 21]. Анализ уровней изучаемых цитокинов

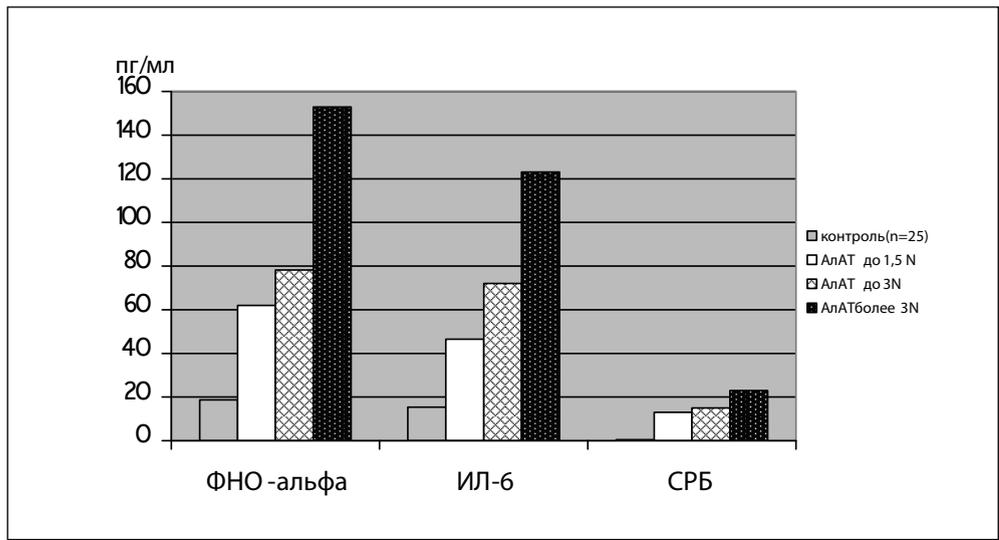


Рис. 1. Зависимость концентрации ФНО- α , ИЛ-6 и СРБ в сыворотке крови от активности АлАт у больных АГ.

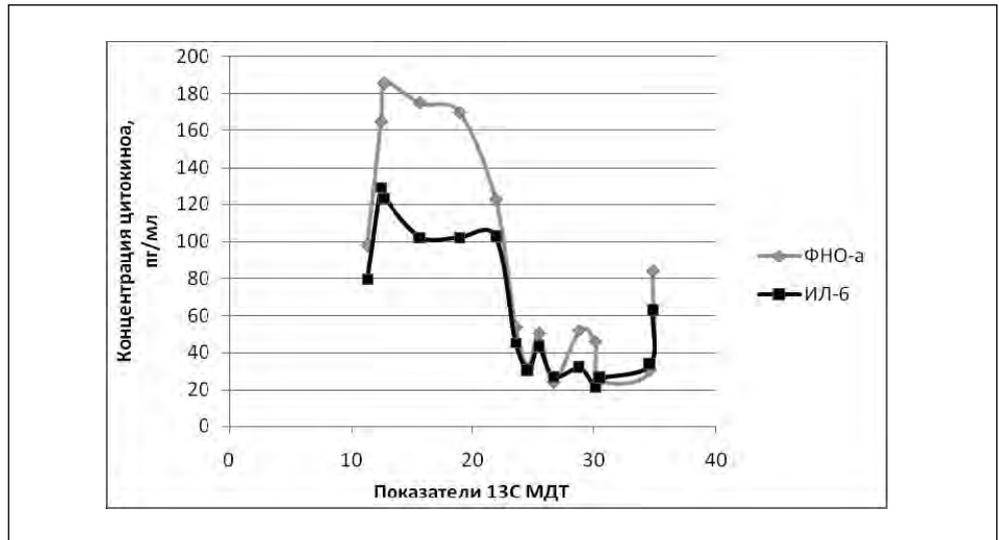


Рис. 2. Корреляция между уровнем провоспалительных цитокинов и результатами ^{13}C -МДТ.

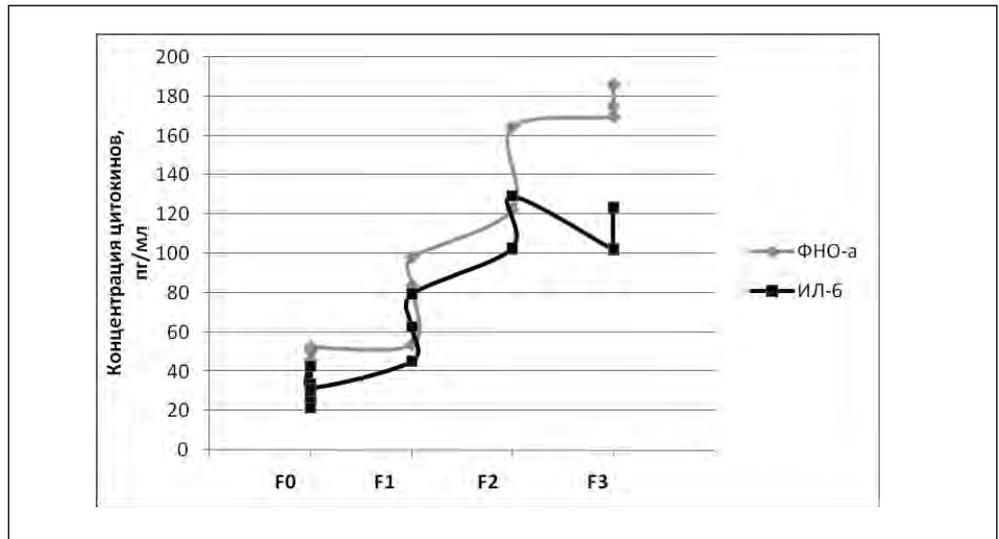


Рис. 3. Корреляция между уровнем провоспалительных цитокинов и стадией фиброза.

позволил выявить прямую корреляционную связь между ФНО- α и ИЛ-6 ($r = 0,78$; $p < 0,01$). Данная закономерность была продемонстрирована в недавних работах, касающихся патогенеза АГ [22].

В подгруппах пациентов с разной активностью АЛАТ были отмечены достоверные отличия между уровнями ФНО- α и ИЛ-6 ($p < 0,01$), что указывает на зависимость биологических эффектов ФНО- α и ИЛ-6 от их концентрации (рис. 1). Анализируя вышеуказанные данные, можно сделать вывод, что уровни ФНО- α и ИЛ-6 зависят от уровня активности АЛАТ в сыворотке крови больных АГ.

Кроме того, данные цитокины участвуют в развитии цитолитического синдрома у больных данной группы, о чем свидетельствуют полученные положительные корреляции между показателями ФНО- α и АЛАТ ($r = 0,61$; $p < 0,01$), ФНО- α и АсАТ ($r = 0,64$; $p < 0,01$), ФНО- α и ГГТП ($r = 0,46$; $p < 0,01$), ИЛ-6 и АЛАТ ($r = 0,54$; $p < 0,01$), ИЛ-6 и АсАТ ($r = 0,65$; $p < 0,01$), ИЛ-6 и ГГТП ($r = 0,48$; $p < 0,01$). Следует заметить, что коэффициент корреляции Спирмена был выше в случае с АсАТ по сравнению с АЛАТ.

Содержание ФНО- α и ИЛ-6 в сыворотке крови больных АГ объективно отражает степень воспаления и фиброза в ткани печени, что подтверждается присутствием прямой корреляции ФНО- α с ИГА ($r = 0,58$; $p < 0,05$) и стадией фиброза ($r = 0,53$; $p < 0,01$); ИЛ-6 с ИГА ($r = 0,64$; $p < 0,01$) и стадией фиброза ($r = 0,62$; $p < 0,01$). Данное заключение согласуется с мнениями других авторов, в работах которых были найдены подтверждения соответствия повышенного уровня провоспалительных цитокинов в крови степени воспаления в печеночной ткани [8; 21; 23].

Интересным является тот факт, что сывороточная концентрация ФНО- α и ИЛ-6 ассоциирована с количеством функционирующих гепатоцитов и степенью нарушения функции печени, о чем свидетельствуют различия в показателях изучаемых цитокинов в подгруппах пациентов с нормальной и сниженной функцией печени по результатам ^{13}C -МДТ, а также полученная обратная корреляционная связь между изучаемыми цитокинами и суммарной концентрацией $^{13}\text{CO}_2$ ($r = -0,72$; $p <$

$0,01$ для ФНО- α и $r = -0,73$; $p < 0,01$ для ИЛ-6). Представленные данные подтверждают высокую значимость ФНО- α и ИЛ-6 для прогнозирования течения и исхода АГ.

Таким образом, в ходе исследования было подтверждено значение обсуждаемых цитокинов в развитии основных проявлений АГ и формировании фиброза печени, а также обоснована возможность использования их показателей как неинвазивных маркеров активности воспаления и продвинутой фиброза печени у больных с АГ.

ВЫВОДЫ

1. Течение АГ, в том числе с исходом в фиброз печени, сопровождается повышением концентрации ФНО- α и ИЛ-6 в сыворотке крови ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой). При этом уровень данных цитокинов ассоциирован с выраженностью фиброза, биохимической и гистологической активностью, количеством функционирующих гепатоцитов и степенью нарушения функции печени.

2. Показатели изучаемых сывороточных провоспалительных цитокинов обладают прогностической значимостью для развития воспаления и фиброза в печеночной ткани у больных АГ и могут быть использованы в качестве неинвазивных маркеров фиброза. В пользу данного утверждения свидетельствуют полученные корреляции между стадией фиброза и ФНО- α ($r = 0,53$; $p < 0,01$), ИЛ-6 ($r = 0,62$; $p < 0,01$); ИГА и ФНО- α ($r = 0,58$; $p < 0,05$), ИЛ-6 ($r = 0,64$; $p < 0,01$); результатами ^{13}C -МДТ и ФНО- α ($r = -0,72$; $p < 0,01$), ИЛ-6 ($r = -0,73$; $p < 0,01$); АЛАТ и ФНО- α ($r = 0,61$; $p < 0,01$), ИЛ-6 ($r = 0,54$; $p < 0,01$); АсАТ и ФНО- α ($r = 0,64$; $p < 0,01$), ИЛ-6 ($r = 0,65$; $p < 0,01$); ГГТП и ФНО- α ($r = 0,46$; $p < 0,01$), ИЛ-6 ($r = 0,48$; $p < 0,01$).

3. Дальнейшее изучение влияния ФНО- α и ИЛ-6 на прогноз и исход АГ (формирование фиброза) может служить основой для разработки терапевтических стратегий для коррекции этого процесса на ранних стадиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gao, B. Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and New Therapeutic Targets / B. Gao, R. Bataller // Gastroenterology. — 2011. — Vol. 141, No. 5. — P. 1572–1585.
2. O'Shea, R. S. Alcoholic liver disease. AASLD practice guidelines / R. S. O'Shea, S. Dasarathy, A. J. McCullough et al. // Hepatology. — 2010. — Vol. 51, No. 1. — P. 307–328.
3. Trabut, J. B. Influence of liver biopsy on abstinence in alcohol-dependent patients / J. B. Trabut, A. Plat, V. Thepot et al. // Alcohol Alcohol. — 2008. — Vol. 43. — P. 559–563.
4. Lucey, M. Alcoholic Hepatitis / M. Lucey, Ph. Mathurin, T. Morgan // N. Engl. J. Med. — 2009. — Vol. 360. — P. 2758–2769.
5. Kim, W. Hyponatremia and Mortality among Patients on the Liver-Transplant Waiting List / W. Kim, S. Biggins, W. Kremers et al. // NEJM. — 2008. — Vol. 359, No. 10. — P. 1018–1026.
6. Алкогольно-вирусные заболевания печени / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская. — М.: Литера, 2007.
7. Mandayam, S. Epidemiology of alcoholic liver disease / S. Mandayam, M. M. Jamal, T. R. Morgan // Semin. Liver Dis. — 2004. — Vol. 24. — P. 217–232.
8. Neuman, M. G. Cytokines in Alcoholic Liver / M. G. Neuman // Alcohol Res. and Health. — 2003. — Vol. 27. — P. 313–322.
9. Nanji, A. A. Increased severity of alcoholic liver injury in female rats: Role of oxidative stress, endotoxin, and chemokines / A. A. Nanji, K. Jokelainen, M. Fotouhinia et al. // AJP-GI. — 2001. — Vol. 281, No. 6. — G1348–G1356.
10. Feldstein, A. E. Apoptosis in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis / A. E. Feldstein, G. J. Gores // Front Biosci. — 2005. — Vol. 10. — P. 3093–3099.
11. Tatsukawa, H. Role of transglutaminase 2 in liver injury via cross-linking and silencing of transcription factor Sp1 / H. Tatsukawa, Y. Fukaya, G. Frampton et al. // Gastroenterology. — 2009. — Vol. 136. — P. 1783–1795.

12. Yan, A. W. Enteric dysbiosis associated with a mouse model of alcoholic liver disease / A. W. Yan, D. E. Fouts, J. Brandl et al. // *Hepatology*. — 2011. — Vol. 53. — P. 96–105.
13. Rao, R. Endotoxemia and gut barrier dysfunction in alcoholic liver disease / R. Rao // *Hepatology*. — 2009. — Vol. 50. — P. 638–644.
14. Hritz, I. The critical role of toll-like receptor (TLR) 4 in alcoholic liver disease is independent of the common TLR adapter MyD88 / I. Hritz, P. Mandrekar, A. Velayudham et al. // *Hepatology*. — 2008. — Vol. 48. — P. 1224–1231.
15. Zhao, X.J. TRIF and IRF-3 binding to the TNF promoter results in macrophage TNF dysregulation and steatosis induced by chronic ethanol / X. J. Zhao, Q. Dong, J. Bindas et al. // *J. Immunol.* — 2008. — Vol. 181. — P. 3049–3056.
16. Cohen, J.I. Complement and alcoholic liver disease: role of C1q in the pathogenesis of ethanol-induced liver injury in mice / J.I. Cohen, S. Roychowdhury, M.R. McMullen et al. // *Gastroenterology*. — 2010. — Vol. 139. — P. 664–674.
17. Pritchard, M. T. Differential contributions of C3, C5, and decay-accelerating factor to ethanol-induced fatty liver in mice / M. T. Pritchard, M.R. McMullen, A. B. Stavitsky et al. // *Gastroenterology*. — 2007. — Vol. 132. — P. 1117–1126.
18. Aertgeerts, B. The value of the CAGE in screening for alcohol abuse and alcohol dependence in general clinical populations: a diagnostic meta-analysis / B. Aertgeerts, F. Buntinx, A. Kester // *J Clin Epidemiol.* — 2004. — Vol. 57. — P. 30–39.
19. Saunders, J. B. Development of the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT): WHO collaborative project on early detection of persons with harmful alcohol consumption-II / J. B. Saunders, O. G. Aasland, T. F. Babor et al. // *Addiction*. — 1993. — Vol. 88. — P. 791–804.
20. Khoruts, A. Circulating tumor necrosis factor, interleukin-1 and interleukin-6 concentrations in chronic alcoholic patients / A. Khoruts, L. Stahnke, C.J. McClain et al. // *Hepatology*. — 1991. — Vol. 13. — P. 267–276.
21. Kawaratani, H. Therapeutic effects of cytokine modulator Y-40138 in the rat alcoholic liver disease model / H. Kawaratani, T. Tsujimoto, T. Kitazawa et al. // *J. Gastroenterol. Hepatol.* — 2011. — Vol. 26, No. 4. — P. 775–783.
22. Miller, A. M. Molecular Mechanisms of Alcoholic Liver Disease: Innate Immunity and Cytokines / A. M. Miller, N. Horiguchi, W. I. Jeong et al. // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* — 2011. — Vol. 35, No. 5. — P. 787–793.
23. Kasprzak, A. Intracellular expression of proinflammatory cytokines (IL-1 alpha, TNF-alpha, and IL-6) in chronic hepatitis / A. Kasprzak, J. Seidel, R. Spachacz et al. // *Rocz. Akad. Med. Bialymst.* — 2004. — Vol. 49, No. 2. — P. 207–209.