

УДК 616.36-002:616-07:577.17

© Е.И. Стилиди, 2013.

СЫВОРОТОЧНЫЕ УРОВНИ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ АЛЬФА И ИНТЕРЛЕЙКИНА-6 У БОЛЬНЫХ С АЛКОГОЛЬНЫМ ГЕПАТИТОМ

Е.И. Стилиди

Кафедра терапии и семейной медицины ФПО (зав. кафедрой - проф. И.Л. Кляритская), Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского», г. Симферополь.

SERUM TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA AND INTERLEUKIN-6 IN PATIENTS WITH ALCOHOLIC HEPATITIS

E.I. Stilidi

SUMMARY

The increased production of tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in patients with alcoholic hepatitis has been established to contribute to the worsening damage to the liver and the development of its fibrosis. There is evidence that the above proinflammatory cytokines may be used as an additional diagnostic criterion for the course and prognosis (the development of fibrosis) in the disease in question.

СИРОВАТКОВІ РІВНІ ФАКТОРА НЕКРОЗУ ПУХЛИНИ АЛЬФА І ІНТЕРЛЕЙКІНУ-6 У ХВОРИХ НА АЛКОГОЛЬНИЙ ГЕПАТИТ

О.І. Стіліді

РЕЗЮМЕ

У ході дослідження було встановлено, що підвищення продукції фактора некрозу пухлини альфа і інтерлейкіну-6 у хворих алкогольним гепатитом сприяє збільшенню пошкодження печінки і розвитку фіброзу. Обґрунтовано можливість використання даних прозапальних цитокінів в якості додаткового діагностичного критерію перебігу та прогнозу (формування фіброзу) при даній патології.

Ключевые слова: алкогольный гепатит, фиброз печени, провоспалительные цитокины.

Согласно данным литературы, основным патогенетическим звеном в развитии алкогольной болезни печени (АБП) служит секреция большого количества провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли альфа (ФНО-α) и интерлейкин-6 (ИЛ-6) [8,11]. Данные цитокины играют значительную роль в формировании определенных метаболических осложнений и повреждении печени при алкогольном гепатите и циррозе печени [3,8], участвуют в процессах апоптоза [5]. Известно, что уровень ФНО-α и ИЛ-6 повышен у пациентов с алкогольным гепатитом и имеет тенденцию к снижению при выздоровлении [1,6,9,11].

Изменение состава кишечной флоры [14], увеличение проницаемости кишечника и транслокация бактериальных липополисахаридов из кишечника в печень [8,12], сопровождающие АБП, вызывают региональную и системную выработку ФНО-α и других провоспалительных цитокинов, инициируя таким образом фиброгенез [1,8]. Активация комплемента С3 и С5, связанная с употреблением алкоголя, также приводит к продукции ФНО-α и ИЛ-6, увеличивая повреждение гепатоцитов [4].

Таким образом, изучение роли ФНО-α и ИЛ-6 в патогенезе и прогрессировании алкогольного гепатита является актуальным.

Цель исследования: определить значение ФНО-α и ИЛ-6 в формировании и прогрессировании фиброза печени при алкогольном гепатите.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было обследовано 48 больных алкогольным гепатитом (средний возраст 46,25 ± 1,95 года; 31 мужчина и 17 женщин). Контрольную группу составили 25 практически здоровых лиц, у которых при полном клиническом и лабораторном обследовании не было обнаружено патологии печени (средний возраст 38,72 ± 2,53 года; 15 мужчин и 10 женщин).

Клинический диагноз алкогольного гепатита устанавливался в соответствии с приказом МЗ Украины от 13.06.2005 № 271 и рекомендациями европейской ассоциации по изучению печени (EASL, 2012). При сборе анамнеза использовались опросники GAGE [2] и AUDIT [13]. В пользу наличия у пациента АБП свидетельствовали анамнестические сведения, полученные от пациента и/или его близких о систематическом приеме алкоголя в клинически значимых дозах: >20 г этилового спирта в день для женщин и >30 г этилового спирта в день для мужчин на протяжении не менее 5 лет.

Программа обследования пациентов включала: оценку жалоб и анамнестических сведений; физикальный осмотр; общеклиническое исследование

периферической крови; исследование биохимических показателей крови; определение маркеров аутоиммунных гепатитов методом иммуноферментного анализа (ИФА); определение ДНК HBV и РНК HCV в сыворотке крови методом полимеразной цепной реакции; ультразвуковое исследование органов брюшной полости; определение ФНО- α , ИЛ-6, С-реактивного белка (СРБ), альфа2 макроглобулина, аполипопротеина А1 в сыворотке крови; пункционную биопсию печени; ^{13}C метацетиновый дыхательный тест (^{13}C -МДТ).

Уровень ФНО- α , ИЛ-6 и СРБ определяли в сыворотке крови больных методом ИФА с использованием тест-систем «Вектор-Бест». За норму указанных показателей иммунного статуса были приняты результаты обследования 25 практически здоровых лиц.

У 15 больных для оценки выраженности фиброза был использован индекс PGAA (табл.1). Стадии фиброза печени в соответствии с индексом PGAA определяли следующим образом: 0 баллов-F0; 1-3 балла- F1; 4-7 баллов- F2; 8-11 баллов-F3; 12-16 баллов-F4.

Таблица 1

Индекс PGAA: диапазон значений от 0 до 16 [10].

Баллы	Протромбиновый индекс, %	ГГТП (ед/л)	Аполипопротеин А1 (мг/дл)	Альфа-2-макроглобулин, г/л
0	$\geq 80\%$	< 20	≥ 200	$< 1,25$
1	70-79%	20-49	175-199	1,25-1,74
2	60-69%	50-99	150-174	1,75-2,24
3	50-59%	10-199	125-149	2,25-2,74
4	$< 50\%$	≥ 200	< 125	$\geq 2,75$

Биопсия печени выполнена 15 пациентам. Активность гепатита оценивалась по критериям определения индекса гистологической активности (ИГА), предложенным Knodell (1981), степень фиброза печени определяли по системе METAVIR (1996).

^{13}C -метацетиновый дыхательный тест проведен 15 пациентам. Интерпретация результатов осуществлялась по суммарной концентрации $^{13}\text{CO}_2$ к 120-й минуте.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании уровня цитокинов установлено, что содержание ФНО- α и ИЛ-6 было повышено у всех больных. Среднее значение ФНО- α составило $74,56 \pm 6,35$ пг/мл (от 30,6 до 185,8 пг/мл), ИЛ-6 - $63,54 \pm 5,29$ пг/мл (от 21,6 до 159,1 пг/мл), что достоверно ($p < 0,01$) повышено по сравнению с соответствующим значением контрольной группы. Полученные результаты свидетельствуют об увеличении в сыворотке крови концентрации ФНО- α и ИЛ-6 у больных алкогольным гепатитом, что согласуется с мнением других исследователей [6, 11].

В подгруппах пациентов с разной активностью АЛТ 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.

По данным статистического анализа, ФНО- α имеет прямую корреляционную связь с АЛТ ($r = 0,61$; $p < 0,01$), АСТ ($r = 0,64$; $p < 0,01$), ГГТП ($r = 0,46$; $p < 0,01$), СРБ ($r = 0,88$; $p < 0,01$), ИГА ($r = 0,58$; $p < 0,05$), стадией фиброза по шкале METAVIR ($r = 0,53$; $p < 0,01$), стадией фиброза по индексу PGAA ($r = 0,54$; $p < 0,05$) и обратную корреляционную связь с уровнем альбумина ($r = -0,42$; $p < 0,01$) и ПТИ ($r = -0,36$;

$p < 0,05$). ИЛ-6 коррелирует с АЛТ ($r = 0,54$; $p < 0,01$), АСТ ($r = 0,65$; $p < 0,01$), ГГТП ($r = 0,48$; $p < 0,01$), СРБ ($r = 0,73$; $p < 0,01$), ИГА ($r = 0,64$; $p < 0,01$), стадией фиброза по шкале METAVIR ($r = 0,62$; $p < 0,01$), стадией фиброза по индексу PGAA ($r = 0,58$; $p < 0,05$), уровнем альбумина ($r = -0,31$; $p < 0,01$), ПТИ ($r = -0,34$; $p < 0,05$).

У больных наблюдается рост концентрации провоспалительных цитокинов по мере прогрессирования фиброза печени, увеличения степени гистологической активности и ухудшения показателя ^{13}C -МДТ. Так, при минимальной степени гистологической активности по R.G. Knodell концентрации изучаемых цитокинов были значительно ниже, чем у лиц с низкой, умеренной и высокой степенью гистологической активности. Средние уровни ФНО- α в данных подгруппах составили: $68,96 \pm 24,19$ пг/мл (минимальная степень активности); $75,26 \pm 26,89$ пг/мл (низкая степень активности); $101,28 \pm 31,84$ пг/мл (умеренная степень активности) и $185,80$ пг/мл (высокая степень активности). Средние значения ИЛ-6 в сыворотке крови больных с различной гистологической активностью гепатита по R.G. Knodell: $54,4 \pm 19,15$ пг/мл; $53,88 \pm 15,52$ пг/мл; $73,65 \pm 18,17$ и $123,40$ пг/мл.

У больных с различными стадиями фиброза печени, которым была проведена биопсия печени, средняя концентрация ФНО- α при F0 METAVIR составила $37 \pm 4,58$ пг/мл, при F1 METAVIR - $78,53 \pm 13,05$ пг/мл, при F2 METAVIR - $143,4 \pm 21,00$ пг/мл и при F3 METAVIR - $176,87 \pm 4,71$ пг/мл. Сывороточные значения ИЛ-6 также возрастали по мере прогрессирования фиброза печени: $30,34 \pm 2,53$ пг/мл (F0 METAVIR), $62,4 \pm 9,87$ пг/мл (F1

METAVIR), 115,913,30 пг/мл (F2 METAVIR) и 109,33±7,03 пг/мл (F3 METAVIR).

У пациентов с различными стадиями фиброза по индексу PGAA средняя концентрация ФНО- α при F0 составила 51,20±4,60 пг/мл, при F1 - 57,08±2,91 пг/мл, при F2 - 83,11±12,32 пг/мл и при F3 - 125,60±57,80 пг/мл. Сывороточные значения ИЛ-6 в подгруппах больных с различными стадиями ФП по индексу PGAA: 39,40±12,00 пг/мл (F0), 46,55±4,55 пг/мл (F1), 73,30±13,27 пг/мл (F2) и 125,40±18,20 пг/мл (F3).

У пациентов с нормальной функцией печени (масса функционирующих гепатоцитов (МФГ) = 100%) по результатам ^{13}C -МДТ сывороточная концентрация ФНО- β и ИЛ-6 составила 51,89±9,67 пг/мл и 42,28±7,69 пг/мл, соответственно, превысив почти в 3 раза показатели контрольной группы. При нарушении функции печени (МФГ менее 100%) по результатам ^{13}C -МДТ наблюдался резкий подъем сывороточной концентрации провоспалительных цитокинов. Так, уровень ФНО- α и ИЛ-6 у данных больных составил 158,62±15,54 пг/мл и 107,32±8,85 пг/мл, соответственно, превысив показатели контрольной группы в 8,7 (для ФНО- α) и 7,1 (для ИЛ-6) раз.

Содержание ФНО- α и ИЛ-6 в сыворотке крови больных алкогольным гепатитом объективно отражает степень воспаления и фиброза в ткани печени, что подтверждается присутствием прямой корреляции данных цитокинов с ИГА, стадией фиброза по шкале METAVIR и индексу PGAA. 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 [7,11].

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 у 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 алкогольного гепатита.

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

ВЫВОДЫ

1. При алкогольном гепатите сывороточные показатели ФНО- α , ИЛ-6 повышены ($p < 0,01$ по сравнению с контрольной группой) и имеют достоверную связь с основными лабораторными и морфологическими характеристиками исследованных больных, что свидетельствует о патогенетической обусловленности указанных параметров и служит предпосылкой для их практического использования с целью оценки активности алкогольного гепатита.

2. Сывороточные уровни ФНО- α и ИЛ-6 обладают прогностической значимостью для развития воспаления и фиброза печени у больных алкогольным гепатитом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Маевская М.В. Алкогольный гепатит тяжело-го течения: роль цитокинов, терапевтические подходы / М.В. Маевская // *Consilium medicum*. – Том 10. – №8. – 2008. – С. 63–66.

2. Aertgeerts B., Buntinx F., Kester A. The value of the CAGE in screening for alcohol abuse and alcohol dependence in general clinical populations: a diagnostic meta-analysis // *J Clin Epidemiol.* - 2004. - Vol. 57. - P. 30-39.

3. Boetticher N.C., Peine C.J., Kwo P., Abrams G.A. A randomized double-blind placebo-controlled multicenter trial of etanercept in the treatment of alcoholic hepatitis // *Gastroenterology*. – 2008. – Vol. 135, № 6. - P. 1953-1960.

4. Cohen J.I., Roychowdhury S., McMullen M.R. et al. Complement and alcoholic liver disease: role of C1q in the pathogenesis of ethanol-induced liver injury in mice // *Gastroenterology*. - 2010. - Vol. 139. – P. 664–674.

5. Feldstein A.E., Gores G.J. Apoptosis in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis // *Front Biosci.* - 2005. - Vol. 10. – P. 3093–3099.

6. Gao B., Bataller R. Alcoholic Liver Disease: Pathogenesis and New Therapeutic Targets // *Gastroenterology*. – 2011. - Vol. 141, № 5. – P. 1572-1585.

7. Kasprzak A., Seidel J., Spachacz R. et al. Intracellular expression of proinflammatory cytokines (IL-1 alpha, TNF-alpha, and IL-6) in chronic hepatitis // *Rocz. Akad. Med. Bialymst.* - 2004. - Vol. 49, № 2. - P. 207-209.

8. Mathurin P, Louvet A, Dharancy S. Treatment of severe forms of alcoholic hepatitis: where are we going? // *J Gastroenterol Hepatol.* - 2008. - Vol. 23 (Suppl. 1). - P. S60-S62.

9. Miller A. M., Horiguchi N., Jeong W. I. et al. Molecular Mechanisms of Alcoholic Liver Disease: Innate Immunity and Cytokines // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. - 2011. - Vol. 35, Issue 5. - P. 787–793.

10. Naveau S., Poynard T., Benattar C. et al. Alpha 2 macroglobulin and hepatic fibrosis. Diagnostic interest // *Dig Dis Sci.* - 1994. - Vol. 39. - P. 2426-2432.

11. Neuman M. G. Cytokines in Alcoholic Liver //

Alcohol Research and Health.-2003.- Vol. 27.- P. 313–322.

12. Rao R. Endotoxemia and gut barrier dysfunction in alcoholic liver disease // *Hepatology*. – 2009. – Vol. 50. – P. 638–644.

13. Saunders J.B., Aasland O.G., Babor T.F. et al. Development of the Alcohol Use Disorders Identification

Test (AUDIT): WHO collaborative project on early detection of persons with harmful alcohol consumption-II // *Addiction*.- 1993.- Vol. 88.- P. 791-804.

14. Yan A.W., Fouts D.E., Brandl J. et al. Enteric dysbiosis associated with a mouse model of alcoholic liver disease // *Hepatology*.- 2011.- Vol. 53. – P. 96–105.