

Цитокины и алкогольная болезнь печени

А.А. Балашова¹, О.С. Аришева¹, И.В. Гармаш¹,
Н.Н. Тербилина², В.Ю. Баронец², Ж.Д. Кобалава¹

¹Медицинский институт ФГАОУ ВО "Российский университет дружбы народов"

²ФГБУ "Федеральный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского" Минздрава РФ

Цель. Изучить содержание цитокинов при алкогольной болезни печени (АБП) в зависимости от стадии фиброза печени.

Материал и методы. В исследование были включены 90 пациентов (67 мужчин, медиана возраста 50 [43-59] лет) с алкогольной болезнью печени, которых распределили на группы в зависимости от стадии фиброза печени: 1-я – F0 (n=25), 2-я – F1-2 (n=20), 3-я – F3 и F4 (класс А по Чайлд-Пью; n=27), 4-я – F4 (класс В и С по Чайлд-Пью; n=18). Степень фиброза определяли методом непрямо́й эластомерии. Критериями исключения были хронические заболевания печени неалкогольного генеза и острый алкогольный гепатит. У всех больных определяли содержание интерлейкина (ИЛ)-6, ИЛ-8, ИЛ12p70, ИЛ12p40, тромбоцитарного фактора роста (ТФР)-β₁. Контрольную группу составили 15 здоровых доноров (10 мужчин; средний возраст 48±8,2 года).

Результаты. Концентрации ИЛ-6, ИЛ-8 и ТФР-β₁ у пациентов с АБП были выше, чем в контрольной группе (p<0,005). Содержание ИЛ-6 и ИЛ-8 зависело от степени алкогольного фиброза печени: во 2-й группе оно было выше, чем в 1-й (p<0,05) и в 3-й (p<0,05), в 4-й группе – выше, чем в 1-й (p<0,005). Плотность печени достоверно (p<0,05) коррелировала с уровнем ИЛ-6 (r=0,354) и ИЛ-8 (r=0,580), а также ТФР-β₁ (r=-0,345). Обнаружены достоверные прямые ассоциации концентраций ИЛ-6 и ИЛ-8 с содержанием общего и прямого билирубина и обратные – с синтетической функцией печени (протромбиновый индекс, холинэстераза). Выявлены достоверные положительные взаимосвязи между активной субъединицей ИЛ-12, субстанцией 40 и количеством тромбоцитов, а также отрицательные корреляции между ТФР-β₁ и количеством тромбоцитов.

Заключение. При злоупотреблении алкоголем и АБП отмечается повышение уровней ИЛ-6, ИЛ-8 и ТФР-β₁, а прогрессирование алкогольного фиброза печени характеризуется изменениями интерлейкинового статуса, при этом плотность печени коррелирует с концентрациями провоспалительных и профиброгенных цитокинов. ИЛ-12, по-видимому, имеет наименьшее значение в развитии АБП и алкогольного фиброза.

Ключевые слова. Цитокины, алкогольный цирроз печени, фиброз печени, плотность печени.

Клин. фармакол. тер., 2017, 26 (1), 41-46.

В настоящее время около 80% случаев цирроза печени в индустриальных странах прямо или косвенно обусловлено алкоголем [1]. Среднесуточное употребление алкогольных напитков в эквиваленте 40-80 г этанола на протяжении 10-12 лет приводит к алкогольной болезни печени (АБП) [2]. АБП включает в себя стеатоз, стеатогепатит, цирроз и гепатоцеллюлярную карциному. Почти все клинические формы АБП сопровождаются развитием фиброза в результате персистирующего воспаления, вызванного этанолом. В ответ на воздействие алкоголя и его метаболитов высвобождается целый каскад цитокинов, запускающих процессы воспаления, фиброгенеза и фибролиза, что приводит к избыточному накоплению внеклеточного коллагена. К основным цитокинам, участвующим в ремоделировании внеклеточного матрикса, можно отнести интерлейкин-6 (ИЛ-6), ИЛ-8, ИЛ-12 и трансформирующий фактор роста (ТФР)-β₁.

ИЛ-6 относится к провоспалительным цитокинам. Он стимулирует синтез белков острой фазы, активирует клетки иммунной системы и макрофаги, способствует пролиферации клеток печени и участвует в формировании фиброза [3]. ИЛ-8 принадлежит к семейству хемокинов и активирует нейтрофилы, вызывая их хемотаксис в очаг воспаления [4]. Известен также как активирующий нейтрофилы пептид-1, фактор активации нейтрофилов, хемотактический фактор гранулоцитов и хемотактический фактор нейтрофилов. ИЛ-12 влияет на иммунные клеточные реакции и секретируется активированными макрофагами. Он имеет молекулярную массу 70 кДа и состоит из двух связанных между собой субъединиц – p40 и p35. Макрофаги помимо биологически активного ИЛ-12p70 секретируют в большом количестве и субъединицу p40. Она не является активной, но необходима для связывания со специфическими рецепторами [5]. ТФР-β₁ относится к профиброгенным цитокинам. Он способствует трансформации звездчатых клеток в миофибробласты и регулирует процессы взаимодействия фиброгенеза и фибролизиса [6,7].

Адрес: 117292, г. Москва, ул. Вавилова, д. 61, ГКБ №64

ТАБЛИЦА 1. Результаты исследований цитокинов при АБП

Исследуемая группа	Результаты: M±m или медиана (IQR)
400 ВИЧ-инфицированных с алкогольной зависимостью [8]	ИЛ-6: 2,75 пг/мл (IQR 1,52-4,81), ИЛ-10: 5,03 пг/мл (IQR 3,08-8,20), ФНО-α: 7,15 пг/мл (IQR 4,85-9,70)
50 пациентов с циррозом (60% алкогольной этиологии) [9]	ИЛ-6: 6,94±3,43 пг/мл
47 пациентов с АБП (у 31 без ЦП, у 16 ЦП) и 18 здоровых добровольцев [10]	ФНО-α: контроль – 6,12 ± 1,87 пг/мл; без ЦП – 5,01±2,10 пг/мл; ЦП – 7,18±3,5 пг/мл; ИЛ-4: 4,62±6,17, 0,82±1,53 и 1,89±4,57 пг/мл, соответственно; ИЛ-6: 5,94±1,68, 6,46±4,87 и 7,79±9,11 пг/мл; ИЛ-10: 9,00±12,10, 11,67±24,92 и 11,71±8,21 пг/мл; ИЛ-13: 4,06±6,60, 10,67±19,90 и 26,42±32,49 пг/мл.
56 пациентов с алкогольным гепатитом (АГ) и 18 здоровых добровольцев, сопоставимых по возрасту и полу [11]	ИЛ-8: контроль – 6,75±1,79 пг/мл; АГ день 0 – 57,80±97,05 пг/мл (p<0,005); день 15 – 26,60±35,15 (p<0,005); ИЛ-10: контроль – 8,22±10,69 пмоль/л; АГ день 0 – 5,13±0,59 пмоль/л (p<0,001); день 15 – 5,90±4,10 пмоль/л (p<0,001); ИЛ-4: контроль – 2,28±1,72 пг/мл; АГ день 0 – 6,88±10,20 пг/мл (p<0,05); день 15 – 27,49±42,90 пг/мл (p<0,05); ФНО-α: контроль – 5,83±1,77 пг/мл; АГ день 0 – 7,22±7,21 пг/мл; день 15 – 6,97±3,84 пг/мл; ИЛ-6: контроль – 5,77±1,40 пг/мл; АГ день 0 – 39,82±81,85 пг/мл; день 15 – 11,87±21,38 пг/мл
45 пациентов с алкогольным циррозом печени (16 – класс А, 19 – В и 10 – С) и 12 здоровых добровольцев [12]	ФНО-α: контроль – 3,9 пг/мл (IQR 3,5-6,5); класс А – 5,6 пг/мл (3,4-27,8); класс В – 5,0 пг/мл (2,8-33,2); класс С – 7,2 пг/мл (4,2-16,8); ИЛ-6: контроль – 24,2 пг/мл (1,2-43,1); класс А – 23,1 пг/мл (8,9-78,2); класс В – 30,3 пг/мл (12,4-95,6); класс С – 35,8 пг/мл (22,8-85,6); ИЛ-8: контроль – 18 пг/мл (8,0-36,0); класс А – 50,3 пг/мл (21,2-77,9); класс В – 49,0 пг/мл (14,3-80,2); класс С – 94,8 пг/мл (46,2-261,4)
24 пациента с АГ (5 – тяжелого течения) и 20 здоровых добровольцев [13]	ИЛ-6: контроль – <7,8 пг/мл; тяжелый АГ – 504±681 пг/мл; нетяжелый АГ – 25±32 пг/мл (p<0,001 по сравнению с тяжелым АГ); ИЛ-8 (пг/мл): контроль – <15,6 пг/мл; тяжелый АГ – 216±304 пг/мл; нетяжелый АГ – 37±77 пг/мл (p<0,05 по сравнению с тяжелым АГ); ФНО-α: контроль – <15,6 пг/мл; тяжелый АГ – 29±18 пг/мл; нетяжелый АГ – 17±6 пг/мл (p<0,005 по сравнению с тяжелым АГ)
94 пациента с АБП (17 – стеатоз, 37 – АГ; 40 – ЦП) и 35 здоровых добровольцев [14].	ИЛ-12: контроль – 39,3±8,3 пг/мл; стеатоз – 74,4±26,2 пг/мл; АГ – 163,1±57,8 пг/мл, ЦП – 110,5±41,6 пг/мл
24 больных алкоголизмом [15]	ФНО-α: F3/F4 – 1,74±0,27 пг/мл; F0/F1 – 1,00±0,16 пг/мл (p=0,039); ТФР-β: F3/F4 – 2,33±0,17; F0/F1 – 1,00±0,16 (p=0,0001)
43 больных с алкогольным ЦП (29 – компенсированный и 14 – декомпенсированный) и 30 здоровых добровольцев [16]	ФНО-α: контроль – 46,0±10,0 пг/мл; ЦП – 30,2±2,1 пг/мл (p<0,05 по сравнению с контролем); декомпенсированный ЦП – 24,5±1,9 пг/мл (p<0,05 по сравнению с контролем и компенсированным ЦП); ИЛ-6: контроль – 33,11±2,06 пг/мл; ЦП – 41,06±4,57 пг/мл (p<0,05 по сравнению с контролем); декомпенсированный ЦП – 53,5±4,8 пг/мл (p<0,05 по сравнению с контролем и компенсированным ЦП).
98 пациентов с АГ (40 тяжелого течения, 58 нетяжелого течения) [17]	АГ тяжелого течения: ИЛ-8 – 252,33±102,32 пг/мл (p<0,05); ИЛ-6 – 15,75±4,85 пг/мл (p>0,05); ИЛ-12/p40 – 120,89±35,10 пг/мл (p>0,05); ТФР-β ₁ – 238,6±70,08 пг/мл (p>0,05)
124 больных с АБП (45 – F0, 28 – F1-3, 51 – F4) [18]	F4: ИЛ-6 – 10,5±2,9 пг/мл (p<0,05 по сравнению с F0); ИЛ-8 – 3,6±12,8 пг/мл (p<0,05 по сравнению с нормой и F0); ИЛ-12/p70 – 147,3±16,2 пг/мл (p<0,05 по сравнению с нормой и F0); ИЛ-12/p40: F0 – 88,6±11,5 пг/мл, F1-3 – 100,6±12 пг/мл, F4 – 129,8±18,5 пг/мл (p<0,05 по сравнению с нормой); ТФР-β ₁ : F0 – 40,5±5,1 пг/мл (p<0,05 по сравнению с нормой), F1-3 – 39,4±3,1 пг/мл (p<0,05 по сравнению с нормой), F4 – 28,0±1,7 пг/мл (p<0,05 по сравнению с нормой и F0)

Цитокиновый профиль у больных с АБП достаточно хорошо изучен (табл. 1), однако большинство исследований было посвящено изучению содержания цитокинов при терминальной стадии заболевания печени и у пациентов с алкогольным гепатитом. В качестве контрольной группы зачастую выступали здоровые добровольцы или пациенты с хроническим гепатитом С. В российской популяции данные о роли цитокинов в развитии АБП крайне скудны.

Целью исследования было изучение уровней цитокинов при АБП и разных стадиях алкогольного фиброза печени.

Материал и методы

В исследование были включены 90 больных (медиана возраста – 50 [43-59] лет, 67 мужчин), злоупотребляющих

алкоголем и страдающих АБП. Пациенты проходили лечение в ГКБ №64 г. Москвы или наблюдались в наркологическом диспансере №6 Московского научно-практического центра наркологии г. Москвы. Алкогольный генез болезни печени подтверждался самими пациентами и/или их родственниками, а также клинико-лабораторными стигмами хронической алкогольной интоксикации [19,20]. Из исследования исключали пациентов с положительной реакцией на антитела к вирусам гепатита и больных с хроническими заболеваниями печени неалкогольной этиологии и острым алкогольным гепатитом. Контрольную группу составили 15 здоровых доноров (10 мужчин, средний возраст – 48±8,2 года), которых подбирали с учетом пола и возраста.

Степень фиброза печени (F) определяли методом непрямой эластометрии с помощью аппарата “Фиброскан” (Франция). Стадию F0 диагностировали при плотности печени <5,8 кПа, F1 – от 5,9 до 7,2 кПа, F2 – от 7,3 до 9,5 кПа, F3 – от 9,6 до 12,5 кПа, F4 (цирроз) – >12,5 кПа [21].

У всех пациентов в локальной лаборатории определяли

ТАБЛИЦА 2. Содержание цитокинов у пациентов с АБП

Цитокины	Контроль (n=15)	Все пациенты (n=90)	Без ЦП (n=55)	ЦП (n=35)
ИЛ-6, пг/мл	0,5 [0,4-0,6]	0 [0-3,9]*	0 [0-4,1]*	2,7 [0-10,4]**
ИЛ-8, пг/мл	0,4 [0,3-0,5]	9,7 [0,2-18,5]**	11,3 [0-16,5]*	8 [1,5-27,5]*
ИЛ-12/p70, пг/мл	88,7 [47,8-101,2]	100 [68,3-173,9]	79,3 [72,7-144,9]	116,1 [67,5-194,8]
ИЛ-12/p40, пг/мл	35 [33-37]	77,8 [51,7-135,8]	82,7 [51,7-121,7]	75,7 [53,4-186,6]
ТФР-β ₁ , нг/мл	8,3 [6,8-10,2]	33,8 [20,1-40,3]**	40,3 [31,6-48,7]**	25,7 [17,7-35,7]**

Примечание: *p<0,05, **p<0,01 по сравнению с контролем; †p<0,01 по сравнению с группой пациентов без ЦП

активность АЛТ, АСТ, гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), холинэстеразы (ХЭ), содержание прямого и общего билирубина, альбумина, холестерина, креатинина, международное нормализованное отношение (МНО), протромбиновый индекс (ПИ). Содержание ИЛ-6, ИЛ-8, ТФР-β₁ измеряли в лаборатории биохимии Научно-исследовательского института наркологии с помощью наборов BenderMedSystem (Австрия), ИЛ-12p40 и ИЛ-12p70 – с помощью наборов BioSource (Бельгия).

Данные обрабатывали с использованием программного обеспечения Statistica (версия 8.0 для Windows). В случае нормального распределения переменных в выборке количественные данные приведены в виде $M \pm m$. Для непрерывных параметров, распределенных ненормально, рассчитывали медиану и интерквартильный размах. Все параметры исходно считали распределенными ненормально. Качественные переменные описаны абсолютными (n) и относительными (%) величинами. Для оценки статистической достоверности различий между группами применяли непараметрические критерии Манна-Уитни (для несвязанных групп) и Вилкоксона (для связанных групп). Корреляционный анализ проводили с использованием метода Спирмена. Статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты

У 55 (61,1%) пациентов показатель плотности печени был $\leq 12,5$ кПа (<F4), а у 35 (38,8%) – $> 12,5$ кПа (F4). Цирроз печени (ЦП) класса А по Чайлд-Пью наблюдался у 17 (18,9%) человек, класса В – у 10 (11,1%), класса С – у 8 (8,8%). В зависимости от стадии фиброза печени пациентов распределили на четыре группы:

1-я – F0 (n=25), 2-я – F1 и F2 (n=20), 3-я – F3 и F4 (класс А по Чайлд-Пью; n=27), 4-я – F4 (класс В и С по Чайлд-Пью; n=18).

У всех пациентов с АБП содержание ИЛ-6, ИЛ-8 и ТФР-β₁ было достоверно выше, чем в контрольной группе. Содержание ТФР-β₁ при ЦП было достоверно ниже, а концентрация ИЛ-6 – достоверно выше, чем у пациентов без ЦП ($p < 0,01$), в то время как концентрация ИЛ-8 не зависела от наличия ЦП. Статистически значимых изменений содержания ИЛ-12 выявлено не было (табл. 2).

Как видно из табл. 3, четыре группы были сопоставимы по возрасту, полу и длительности алкогольного анамнеза. У пациентов 3-й и 4-й групп показатели холестерина (общий билирубин, ГГТ) и синтетической функции печени (альбумин, ПИ, холинэстераза) отличались от таковых у пациентов 1-й группы. Активность холинэстеразы достоверно снижалась при прогрессировании фиброза печени. Концентрации ИЛ-6 и ИЛ-8 возрастали во 2-й группе, снижались по мере прогрессирования фиброза (3-я группа) и вновь возрастали при декомпенсации ЦП (4-я группа). Концентрация ТФР-β₁ у пациентов с ЦП класса В и С (4-я группа) была достоверно ниже, чем у пациентов с F0 (1-я группа). Концентрация ИЛ-12 не зависела от стадии фиброза печени (табл. 4).

Плотность печени достоверно ($p < 0,05$) коррелировала с уровнями ИЛ-6 ($r = 0,354$) и ИЛ-8 ($r = 0,580$) и обратно – с содержанием ТФР-β₁ ($r = -0,345$). Выявлены достоверные прямые ассоциации концентраций ИЛ-6 и

ТАБЛИЦА 3. Характеристика пациентов с алкогольным фиброзом печени

Показатели	1-я группа (n=25)	2-я группа (n=20)	3-я группа (n=27)	4-я группа (n=18)
Степень фиброза	F0	F1-2	F3-4 (ЦП А)	F4 (ЦП В и С)
Плотность печени, кПа	5,0±0,9	6,7±0,6	20,2±8,6	61,7±13,3
Возраст, лет	49,0±12,5	55,3±14,6	54,5±10,4	52,2±8,4
Мужчины, n (%)	11 (73)	6 (60)	21 (84)	14 (60)
Срок употребления алкоголя, лет	10,3±6,2	12,1±6,9	15,6±5,0	15,1±3,5
Гемоглобин, г/л	128 [120-142]	132 [108-148]	139 [110-165]	119 [114-123]
Лейкоциты, тыс/мкл	6,1 [4,8-7,2]	6,3 [5,4-7,9]	6,6 [5-8,7]	5,9 [5,2-5,95]
Тромбоциты, тыс/мкл	206 [169-256]	251 [158-278]	159 [134-186]	144 [120-180]
СОЭ, мм/ч	8 [5-15]	6 [3-12]	18 [10-40]	13 [10-26]**
АЛТ, Ед/л	25,8 [18,4-61,2]	27,7 [15,2-35,3]	34,0 [9,7-51,3]	23,9 [23,0-51,4]
АСТ, Ед/л	27,9 [20,3-53,6]	22,3 [15,3-42,7]	34,0 [23,3-60,1]	51,3 [36,3-97,9]
ГГТ, Ед/л	36 [21-168]	76 [22-141]	131 [81-252]**	108 [59-284]**
Билирубин общий, мкмоль/л	11,05 [7,9-15,9]	19,9 [9,0-22,2]	21,0 [12,3-35,1]**	38,5 [20,6-73,4]**
Билирубин прямой, мкмоль/л	2,85 [1,8-4,3]	3,85 [1,7-6,7]	7,15 [3,1-12,7]	12 [5,6-28,6]
Общий белок, г/л	71,6 [67,7-73]	69,4 [65,5-74,5]	74,5 [61,9-76,4]	59,3 [46,2-61,0]
Альбумин, г/л	43,8 [40,5-47,2]	43,5 [40,5-45,2]	37,2 [28,7-38]	29,8 [27,4-40,8] *
Холинэстераза, Ед/л	9740 [9580-10550]	7955 [7715-8940]**	3820 [3560-4640]*	2860 [2400-3200]*
ПИ, %	98 [97-116]	109 [109-113]	93 [75-102]	62 [48-71]**
Креатинин, мкмоль/л	85 [78-94]	85 [73-101]	81 [76-89]	69 [57-92]

Примечание: *p<0,01; **p<0,05 по сравнению с F0

ТАБЛИЦА 4. Содержание цитокинов в крови пациентов с различной степенью фиброза печени

Показатели	Контроль (n=15)	1-я группа (n=25)	2-я группа (n=20)	3-я группа (n=27)	4-я группа (n=18)
ИЛ-6, пг/мл	0,5 [0,4-0,6]	1,6 [0,8-18,8]	4,8 [1-15,8] *	2,6 [0,2-6,3]**	3,2 [0,7-18,5]***
ИЛ-8, пг/мл	0,4 [0,3-0,5]	5,3 [0-12,7]	14,3 [1,2-18,2]*	4,2 [0-11,7]**	19,2 [6,9-51,3]***
ИЛ-12/p70, пг/мл	88,7 [47,8-101,2]	78,7 [74,9-114,9]	76,7 [33,3-101,4]	110 [47,2-242,1]	104,6 [77,5-174,8]
ИЛ-12/p40, пг/мл	35 [33,0-37,0]	77,8 [51,7-119,5]	92,7 [45,9-129,8]	70,2 [45,7-160,3]	84,55 [58,5-148,0]
ТФР- β_1 , нг/мл	8,3 [6,8-10,2]	38 [29,3-50,3]	41,6 [31,6-48,0]	35,5 [16,7-40,3]	22,65 [18,1-30,3]***

Примечание: *достоверные различия между 1-й и 2-й группами, **достоверные различия между 2-й и 3-й группами, *** достоверные различия между 1-й и 4-й группами

ИЛ-8 с содержанием общего и прямого билирубина и обратные – с синтетической функцией печени (ПИ, холинэстераза) (табл. 5). Обнаружены достоверные положительные взаимосвязи между активной субъединицей ИЛ-12, субстанцией 40 и количеством тромбоцитов, а также отрицательные корреляции между уровнем ТФР- β_1 и количеством тромбоцитов. При изучении взаимосвязей цитокинов друг с другом выявлены достоверные коэффициенты корреляции между содержанием ИЛ-6 и ИЛ-8 (0,43), ТФР- β_1 и ИЛ-12/p70 (-0,39), ТФР- β_1 и ИЛ-12/p40 (-0,38).

Обсуждение

Таким образом, при алкогольной болезни концентрации ИЛ-6, ИЛ-8 и ТФР- β_1 были достоверно повышены по сравнению с контролем, причем концентрация ИЛ-8 не зависела от стадии заболевания печени. Концентрация ИЛ-6 была самой высокой при наличии ЦП, в то время как содержание ТФР- β_1 у пациентов с ЦП было достоверно ниже, чем у больных без ЦП. Статистически значимых изменений содержания ИЛ-12 у больных с АБП выявлено не было. Содержание ИЛ-6 и ИЛ-8 отличалось в зависимости от степени алкогольного фиброза. Уровни провоспалительных интерлейкинов возрастали при степени фиброза F1-2, снижались по мере прогрессирования фиброза и вновь возрастали при декомпенсации ЦП. Выявлена достоверная прямая ассоциация плотности печени с концентрациями провоспалительных цитокинов (ИЛ-6 и ИЛ-8) и обратная – с содержанием ТФР- β_1 , а также прямые взаимосвязи содержания ИЛ-6 и ИЛ-8 с уровнем билирубина и обратные – с показателями белково-синтетической функции печени. Кроме того, уровни провоспалительных интерлейкинов коррелировали друг с другом. Несмотря на отсутствие достоверных различий концентраций ИЛ-12 при алкогольном фиброзе печени, обнаружены обратные связи между содержанием ИЛ-12 и ТФР- β_1 , а также количеством тромбоцитов.

Злоупотребление алкоголем, вероятно, изменяет уровни цитокинов в различных органах и тканях, вклю-

ТАБЛИЦА 5. Коэффициенты корреляции (r, p<0,05) между уровнем цитокинов и лабораторными показателями

Показатели	Тромбоциты	Общий билирубин	Прямой билирубин	ПИ	Холинэстераза
ИЛ-6	-	0,365	0,345	-0,408	-0,598
ИЛ-8	-	0,423	0,476	-0,347	-0,389
ИЛ-12/p70	-0,412	-	-	-	-
ИЛ-12/p40	-0,424	-	-	-	-
ТФР- β_1	0,593	-	-	-	-

чая плазму, легкие, мозг и печень [22]. Изменения содержания цитокинов могут иметь ключевое значение для понимания патогенеза алкогольной болезни. Взаимосвязь между цитокинами и повреждением печени при злоупотреблении алкоголем изучается с 90-х годов прошлого века. В одном из первых исследований было выявлено увеличение средней концентрации ИЛ-6 у пациентов с алкогольной болезнью печени (цирроз и гепатит) по сравнению с таковой у здоровых людей и пациентов, злоупотребляющих алкоголем, но не страдающих заболеванием печени. Содержание ИЛ-6 коррелировало с биохимическими показателями активности и белково-синтетической функции печени [23]. В другом исследовании у 629 молодых людей наличие алкоголизма также сопровождалось достоверным увеличением концентрации ИЛ-6 ($p \leq 0,001$) [24]. Сходные результаты были получены в нашем исследовании. Содержание ИЛ-6 было достоверно повышено при злоупотреблении алкоголем, особенно у пациентов с ЦП.

Активатор нейтрофилов ИЛ-8 наиболее изучен при особой форме алкогольной болезни печени – остром алкогольном гепатите. Этот интерлейкин играет важную роль в развитии нейтрофильной инфильтрации печени [4]. Концентрация ИЛ-8 тесно коррелирует со смертностью и тяжестью острого алкогольного гепатита [25]. Y. Huang и соавт. определяли содержание ИЛ-8 у 45 больных со стабильной АБП (стеатоз у 15 человек и ЦП у 30). Концентрация ИЛ-8 была достоверно повышена по сравнению с контролем и коррелировала с содержанием общего билирубина и протромбиновым временем [26]. В нашем исследовании содержание ИЛ-8 у лиц, злоупотребляющих алкоголем, было достоверно выше, чем у здоровых людей, независимо от наличия ЦП.

ТФР- β_1 является индуктором синтеза коллагена в печени. Он регулирует экспрессию матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов и модулирует воспалительные реакции, влияя на функции Т-клеток. ТФР- β_1 считают основным фактором, ускоряющим развитие фиброза печени [7]. В исследовании Y.-K. Kim и соавт. плазменные концентрации ТФР- β_1 у пациентов с алкогольной зависимостью были значительно выше ($1653,11 \pm 532,45$ пг/мл), чем у здоровых лиц ($669,87 \pm 366,53$ пг/мл; $p < 0,05$), но не отличались у пациентов, страдавших и не страдавших заболеванием печени ($p = 0,36$) [27]. Эти данные согласуются с результатами нашего исследования.

Данные о связи ИЛ-12 с АБП достаточно немногочисленны.

численны. К. Tung и соавт. изучали связь между уровнем ИЛ-12 и стадией АБП. Были обследованы 35 здоровых людей, не злоупотребляющих алкоголем, и 94 пациента с АБП, в том числе 17 – со стеатозом печени, 37 – с алкогольным гепатитом, 40 – с ЦП. Во всех трех группах пациентов с АБП средний уровень ИЛ-12 был выше, чем в контрольной группе ($p < 0,03$) [14]. В нашем исследовании не было выявлено взаимосвязи между уровнем ИЛ-12 и АБП.

По мнению некоторых авторов определение цитокинового статуса имеет важное значение для оценки динамики фиброза и прогноза заболевания, так как уровень цитокинов отражает интенсивность воспаления и регенераторных процессов в печени [28–32]. При прогрессировании алкогольного фиброза мы ожидали повышения плазменных концентраций как интерлейкинов, так и профиброгенного цитокина, которое отмечено при хронической HCV-инфекции [33]. Хотя концентрации ИЛ-6 и ИЛ-8 отличались у пациентов с разными стадиями фиброза печени, нарастающего их увеличения при его прогрессировании мы не выявили. Высокий уровень ИЛ-6 и ИЛ-8 отмечался при незначительном фиброзе (F1–2) и циррозе печени, а при F3 степени фиброза их концентрации снижались. Вероятно, активность сывороточных ИЛ-6 и ИЛ-8 при незначительной степени фиброза обусловлена высокой воспалительной активностью в печени под действием токсических доз этанола и его метаболитов и бессимптомными атаками острого алкогольного гепатита. При декомпенсации цирроза печени высокий уровень интерлейкинов можно объяснить увеличением проницаемости кишечной стенки для эндотоксинов на фоне портальной гипертензии [9].

При корреляционном анализе была выявлена прямая ассоциация между плотностью печени и концентрацией ИЛ-6 и ИЛ-8. Как известно, на плотность печени влияют не только выраженность фиброза, но и маркеры повреждения печени и холестаза [34]. При планировании исследования мы попытались учесть этот факт: группы пациентов с различной степенью фиброза печени были сопоставимы по средней активности аминотрансфераз, в то время как содержание билирубина и ГГТ достоверно отличалось только между группами больных с декомпенсированным ЦП и F0. Еще одним фактором, влияющим на плотность печени, является значительная гистологическая активность. Возможно, корреляция содержания интерлейкинов с плотностью печени может быть обусловлена воспалением печеночной ткани, что требует гистологического подтверждения. Однако наше исследование не предполагало проведение биопсии печени по этическим соображениям.

ТФР- β_1 , является ключевым профиброгенным цитокином. Мы не выявили его существенного вклада в прогрессирование ЦП. Концентрации ТФР- β_1 были достоверно снижены только при ЦП по сравнению с F0 и имели обратную ассоциацию с плотностью печени. По-видимому, при большей выраженности фиброза

печени уменьшается продукция ТФР- β_1 .

Несмотря на отсутствие достоверных изменений концентраций ИЛ-12 при алкогольном фиброзе печени, мы обнаружили обратные связи между содержанием ИЛ-12 и ТФР- β_1 , а также с количеством тромбоцитов. В литературе мы не нашли информации о взаимодействии этих интерлейкинов между собой и их связи с тромбоцитам. Этот вопрос требует дальнейшего изучения.

Заключение

Таким образом, при злоупотреблении алкоголем и АБП отмечается повышение уровней ИЛ-6, ИЛ-8 и ТФР- β_1 . Прогрессирование алкогольного фиброза печени сопровождается изменениями интерлейкинового статуса, при этом плотность печени коррелирует с концентрациями провоспалительных и профиброгенных цитокинов. ИЛ-12, по видимому, имеет наименьшее значение в развитии АБП и алкогольного фиброза. Однако изменение спектра цитокинов при АБП требует дальнейшего изучения.

1. WHO. European Status Report on Alcohol and Health, 2010.
2. Rehm J, Taylor B, Mohapatra S, et al. Alcohol as a risk factor for liver cirrhosis: a systematic review and meta-analysis. *Drug Alcohol Rev* 2010;29:437–45.
3. Neuman MG. Cytokines and inflamed liver. *Clin Biochem* 1999;33:601–5.
4. Bird G. Interleukin-8 in alcoholic liver disease. *Acta Gastroenterol Belg* 1994; 57(3–4):255–9.
5. Trinchieri G. Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity. *Annu Rev Immunol* 1995;13:251–65.
6. Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008;134(6): 1655–69.
7. Inagaki Y. Emerging insights into transforming growth factor β smad signal in hepatic fibrogenesis. *Gut* 2007;56(2):284–92.
8. Fuster D, Cheng DM, Quinn EK, et al. Inflammatory cytokines and mortality in a cohort of HIV-infected adults with alcohol problems. *AIDS* 2014;28:1059–64.
9. Reiberger T, Ferlitsch A, Payer BA, et al. Non-selective betablocker therapy decreases intestinal permeability and serum levels of LBP and IL-6 in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 2013;58:911–21.
10. González-Reimers E, Santolaria-Fernández F, Medina-García JA, et al. TH-1 and TH-2 cytokines in stable chronic alcoholics. *Alcohol Alcohol* 2012;47:390–6.
11. González-Reimers E, Sánchez-Pérez MJ, Santolaria-Fernández F, et al. Changes in cytokine levels during admission and mortality in acute alcoholic hepatitis. *Alcohol* 2012;46:433–40.
12. Mortensen C, Andersen O, Krag A, et al. High-sensitivity C-reactive protein levels predict survival and are related to haemodynamics in alcoholic cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012;24:619–26.
13. Ishikawa M, Uemura M, Matsuyama T, et al. Potential role of enhanced cytokinemia and plasma inhibitor on the decreased activity of plasma ADAMTS13 in patients with alcoholic hepatitis: Relationship to endotoxemia. *Alcohol Clin Exp Res* 2010;34:S25–S33.
14. Tung KH, Huang YS, Yang KC, et al. Serum interleukin-12 levels in alcoholic liver disease. *J Chin Med Assoc* 2010;73:67–71.
15. Lavallard VJ, Bonnafous S, Patouraux S, et al. Serum markers of hepatocyte death and apoptosis are non invasive biomarkers of severe fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *PLoS ONE* 2011;6:e17599.
16. Zuwajagi J, Pazgan-Simon M, Simon K, Warwas M. Advanced oxidation protein products and inflammatory markers in liver cirrhosis: A comparison between alcohol-related and HCV-related cirrhosis. *Acta Biochim Pol* 2011;58:59–65.
17. Журавлева А.С. Оценка роли цитокинов при остром алкогольном гепатите и изменение их спектра под влиянием пентоксифиллина. Автореферат дисс. ... канд. мед. наук, 2013:19 с.
18. Панченко Л.Ф., Теребилина Н.Н., Пирожков С.В. и др. Иммуноклеточные маркеры фиброза у больных с алкогольными заболеваниями печени. *Наркология* 2016;6:54–61.
19. Моисеев В.С. Алкогольная болезнь. Поражение внутренних органов. ГЭО-ТАР-Медиа, 2014, 480 с.
20. EASL Clinical Practical Guidelines: Management of Alcoholic Liver Disease. *J Hepatol* 2012;57:399–420.
21. Pavlov CS, Casazza G, Nikolova D, et al. Transient elastography for diagnosis of stages of hepatic fibrosis and cirrhosis in people with alcoholic liver disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;1:CD010542.
22. Crews FT, Bechara R, Brown LA, et al. Cytokines and alcohol. *Alcohol Clin Exp Res* 2006;30:720–30.
23. Khoruts A, Stahnke L, McClain CJ, et al. Circulating tumor necrosis factor, interleukin-1 and interleukin-6 concentrations in chronic alcoholic patients. *Hepatology* 1991;13:267–76.
24. Zago P, Moreira FP, Jansen K, et al. Alcohol use disorder and inflammatory

- cytokines in a population sample of young adults. *J Alcohol Drug Depend* 2016;4:236.
25. Huang YS, Wu JC, Chang FY, Lee SD. Interleukin-8 and alcoholic liver disease. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)* 1999;62(7):395-401.
 26. Huang YS, Chan CY, Wu JC, et al. Serum levels of interleukin-8 in alcoholic liver disease: relationship with disease stage, biochemical parameters and survival. *J Hepatol* 1996;24(4):377-84.
 27. Kim YK, Lee BC, Ham BJ, et al. Increased transforming growth factor-beta1 in alcohol dependence. *J Korean Med Sci* 2009;24(5):941-4.
 28. Стилиди Е.И. Роль предикторов фиброза и обоснование их коррекции при хронических гепатитах разной этиологии. Дисс. ... канд. мед. наук, 2014, 154 с.
 29. Farci P, Wollenberg K, Diaz G, et al. Profibrogenic chemokines and viral evolution predict rapid progression of hepatitis C to cirrhosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109:14562-7.
 30. Gao B. Hepatoprotective and anti-inflammatory cytokines in alcoholic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2012;27:89-93.
 31. 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;49(2):207-9.
 32. Li K, Li NL, Wei D, et al. Activation of chemokine and inflammatory cytokine response in hepatitis C virus-infected hepatocytes depends on Toll-like receptor 3 sensing of hepatitis C virus double-stranded RNA intermediates. *Hepatology* 2012;55(3):666-75.
 33. Булатова И.А. Фиброз при хронических заболеваниях печени: механизмы развития, клинико-лабораторная оценка прогрессирования и мониторинг терапии. Дисс. ... доктора мед. наук. Пермь, 2016, 253 с.
 34. Ledinghen V, Vergniol J. Transient elastography (FibroScan). *Gastroenterol Clin Bio* 2008;32:58-67.

Cytokines in alcoholic liver disease

**A.A. Balashova, O.S Arisheva, I.V. Garmash,
N.N. Terebilina, V.Yu. Baronetz, Zh.D. Kobalava**

Aim. To evaluate concentration of cytokines in alcohol liver disease (ALD), depending on the stage of liver fibrosis.

Material and methods. Ninety patients with ALD [67 male, median age 50 (IQR 43-59) years] were included in our study. They were divided into 4 groups depending on the stage of liver fibrosis: 1) F0, n=25; 2) F1-2, n=20; 3) F3 + F4 (class A according to Child-Pugh score), n=27; 4) F4 (class B,

C according to Child-Pugh score), n=18. The stage of liver fibrosis was determined by transient elastometry (FibroScan®). Exclusion criteria were chronic non-alcoholic liver disease and acute alcoholic hepatitis. We analyzed serum concentrations of interleukin (IL)-6, IL-8, IL12p70, IL12p40, transforming growth factor beta-1 (TGF-β₁). The control group consisted of 15 healthy volunteers (10 male, 48 ± 8,2 years).

Results. In patients with ALD serum concentration of IL-6, IL-8, TGF-β₁ were higher than in the control group (p < 0.005). The levels of IL-6 and IL-8 depended on the degree of alcoholic liver fibrosis. In the group 2, they were higher than in the groups 1 (p < 0,05) and 3 (p < 0,05), while in the group 4 they were higher than in the group 1 (p < 0.005). Liver stiffness correlated (p < 0,05) with serum concentration of IL-6 (r=0,354), IL-8 (r=0,580) and TGF-β₁ (r=-0,345). Also we found a positive correlation of serum IL-6 and IL-8 with serum total and direct bilirubin and negative correlation with synthetic liver function (prothrombin index, cholinesterase). There were significant positive correlation between the active subunit of IL-12 (IL12p40) and platelet counts and significant negative correlation between TGF-β₁ and platelet counts.

Conclusion. In patients with ALD, there were increased levels of IL-6, IL-8 and TGF-β₁. Progression of alcoholic liver fibrosis was associated with changes in interleukins levels. Liver stiffness correlated with levels of proinflammatory and profibrogenic cytokines. IL-12 had no impact on development ALD and alcoholic fibrosis.

Keywords. *Cytokines, alcoholic cirrhosis, liver fibrosis, liver stiffness.*

Clin. Pharmacol. Ther., 2017, 26 (1), 41-46.