

# Печеночно-клеточное повреждение и воспаление при разных формах алкогольной болезни печени

А.С. Родина<sup>1</sup>, М.Э. Шубина<sup>1</sup>, И.В. Курбатова<sup>2</sup>, Л.В. Топчиева<sup>2</sup>, О.П. Дуданова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Россия;

<sup>2</sup>Институт биологии – обособленное подразделение ФГБУН «Федеральный исследовательский центр "Карельский научный центр"» Российской академии наук, Петрозаводск, Россия

## Резюме

**Цель.** Оценка печеночно-клеточного повреждения и иммунного воспаления при разных формах алкогольной болезни печени (АБП). **Материалы и методы.** Обследованы 104 больных АБП: 15 (14,4%) стеатозом печени (СП), 19 (18,3%) стеатогепатитом и 70 (67,3%) циррозом печени (ЦП); мужчин 50 (48,1%), женщин 54 (51,9%); возраст – 45,7±8,4 года. Выполнялись традиционные клинико-лабораторные, инструментальные исследования, иммуноферментным анализом определялись уровни фрагментов цитокератина-18 (ФЦК-18), цитокинов – интерлейкина (ИЛ)-1β, фактора некроза опухоли α (TNF-α), ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8. Контрольную группу составили 39 здоровых лиц: мужчин – 20 (51,2%), женщин – 19 (48,7%), возраст – 48,5±8,3 года.

**Результаты.** При СП отмечалось увеличение уровня ФЦК-18 при нормальной активности аминотрансфераз, увеличивалось содержание TNF-α, ИЛ-6, ИЛ-1β, ИЛ-8 и снижался уровень ИЛ-4 по сравнению с таковыми у здоровых лиц. При стеатогепатите отмечались трехкратный по сравнению со СП рост аминотрансфераз и ФЦК-18, а также увеличение уровня медиаторов воспаления, в большей степени – ИЛ-6, в меньшей степени – ИЛ-8, TNF-α, снижение ИЛ-4, ИЛ-1β сохранялся на том же уровне. При ЦП фиксировался дальнейший рост ФЦК-18, достоверно более выраженный, чем увеличение аспаргатаминотрансферазы, и продолжалось увеличение цитокинов – в одинаковой степени уровня ИЛ-6 и ИЛ-8, в меньшей степени – ИЛ-1β и TNF-α, снижался уровень ИЛ-4.

**Заключение.** При прогрессировании АБП от СП до стеатогепатита печеночно-клеточное повреждение осуществлялось в одинаковой степени выраженными процессами некроза и апоптоза гепатоцитов, при развитии ЦП повреждение паренхимы происходило преимущественно за счет апоптоза гепатоцитов. Иммуновоспалительный процесс прогрессивно нарастал от стадии СП до ЦП, наибольшую динамику при этом претерпевали ИЛ-6 и ИЛ-8. ФЦК-18 могут служить неинвазивным маркером печеночно-клеточного повреждения, а ИЛ-6 и ИЛ-8 – маркерами иммунного воспаления при АБП.

*Ключевые слова:* алкогольная болезнь печени, печеночно-клеточное повреждение, апоптоз, фрагменты цитокератина-18, интерлейкины, воспаление

*Для цитирования:* Родина А.С., Шубина М.Э., Курбатова И.В. и др. Печеночно-клеточное повреждение и воспаление при разных формах алкогольной болезни печени. *Терапевтический архив.* 2021; 93 (1): 15–19. DOI: 10.26442/00403660.2021.01.200587

## Hepatocellular damage and inflammation in various forms of alcoholic liver disease

A.S. Rodina<sup>1</sup>, M.E. Shubina<sup>1</sup>, I.V. Kurbatova<sup>2</sup>, L.V. Topchieva<sup>2</sup>, O.P. Dudanova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia;

<sup>2</sup>Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia

**Aim.** The aim of the study was to evaluate hepatocellular damage and immune inflammation in various forms of alcoholic liver disease (ALD).

**Materials and methods.** 104 patients with ALD were examined: 15 (14.4%) with liver steatosis (LS), 19 (18.3%) with steatohepatitis and 70 (67.3%) with liver cirrhosis (LC); men 50 (48.1%), women 54 (51.9%); age – 45.7±8.4 years. Traditional clinical, laboratory, instrumental studies were performed, the levels of fragments of cytokeratin-18 (FCK-18), cytokines – IL-1β, TNF-α, IL-4, IL-6, IL-8 were determined by ELISA. The control group consisted of 39 healthy individuals: men – 20 (51.2%), women – 19 (48.7%), age – 48.5±8.3 years.

**Results.** In LS, an increase in the level of FCK-18 was noted with normal aminotransferase activity, the content of TNF-α, IL-6, IL-1β, IL-8 increased and the level of IL-4 decreased compared to those in healthy individuals. In steatohepatitis, a triple increase in aminotransferases and FCK-18 was observed compared with LS, as well as an increase in the level of inflammatory mediators, to a greater extent – IL-6, to a lesser extent – IL-8, TNF-α, a decrease in IL-4, IL-1β remained at the same level. In LC, there was a further increase in FCK-18, significantly more pronounced than an increase in AST, and the increase in cytokines continued – to the same extent, the levels of IL-6 and IL-8, to a lesser extent – IL-1β and TNF-α, and the level of IL-4.

**Conclusion.** With the progression of ALD from LS to steatohepatitis, hepatic cell damage was carried out by equally pronounced processes of hepatocyte necrosis and apoptosis, with the development of cirrhosis of the liver, parenchyma damage occurred mainly due to hepatocyte apoptosis. The immuno-inflammatory process progressively increased from the stage of LS to LC with IL-6 and IL-8 undergoing the greatest dynamics. FCK-18 can serve as a non-invasive marker of hepatic cell damage, and IL-6 and IL-8 – markers of immune inflammation in ALD.

*Keywords:* alcoholic liver disease, hepatic cell damage, apoptosis, fragments of cytokeratin-18, interleukins, inflammation

*For citation:* Rodina A.S., Shubina M.E., Kurbatova I.V., et al. Hepatocellular damage and inflammation in various forms of alcoholic liver disease. *Terapevticheskii Arkhiv (Ter. Arkh.).* 2021; 93 (1): 15–19. DOI: 10.26442/00403660.2021.01.200587

АБП – алкогольная болезнь печени  
АЛТ – аланинаминотрансфераза  
АСТ – аспаргатаминотрансфераза  
ГГТП – γ-глутамилтранспептидаза  
ИЛ – интерлейкин  
СГ – стеатогепатит

СП – стеатоз печени  
СРП – С-реактивный протеин  
ФЦК-18 – фрагменты цитокератина-18  
ЦП – цирроз печени  
TNF-α – фактор некроза опухоли α

## Введение

Алкогольная болезнь печени (АБП) представлена различными клиническими формами или стадиями заболевания: стеатозом печени (СП), стеатогепатитом (СГ), циррозом печени (ЦП) и особо тяжелой формой, связанной с алкогольным эксцессом, острым алкогольным гепатитом [1, 2]. Ведущую роль в механизмах прогрессирования АБП отводится фиброзу, но данный процесс является вторичным, а начинается заболевание с печеночно-клеточного повреждения и иммунного воспаления, в связи с чем важной задачей остается ранняя и точная диагностика печеночно-клеточной гибели и воспаления. Алкоголь и его метаболиты оказывают повреждающее действие на печеночные клетки, вызывая дисфункцию органелл, окислительный стресс, образование модифицированных белков и липидов, разрушение мембран и цитоскелета клетки, приводя к некрозу и апоптозу гепатоцитов. При этом образуются так называемые DAMP-структуры, распознаваемые купферовскими клетками, эндотелиальными синусоидальными, дендритными клетками и другими иммунокомпетентными клетками, которые в избытке представлены в печени. Кроме того, продукты кишечной бактериальной флоры (РАМР-структуры) в условиях повышенной под действием алкоголя проницаемости слизистой оболочки кишки также вызывают активацию toll-рецепторов иммунных клеток и самих гепатоцитов. Активация toll-рецепторов через систему внутриклеточных сигналов способствует транскрипции генов провоспалительных цитокинов и синтезу таких медиаторов воспаления, как интерлейкин (ИЛ)-1 $\beta$ , фактор некроза опухоли  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17, и других цитокинов. Достигнут значительный прогресс в понимании патогенетических механизмов алкогольного повреждения печени, изучены особенности изменения традиционных маркеров клеточного некроза, но до настоящего времени менее ясной остается роль апоптоза гепатоцитов в развитии АБП. Одним из сывороточных маркеров апоптоза эпителиальных клеток является цитоцератин-18, фрагменты которого освобождаются в кровь при разрушении промежуточных микрофиламентов клетки под действием каспаз. В литературе крайне мало информации о клинической и диагностической роли фрагментов цитоцератина-18 (ФЦК-18) при АБП. Так, в единственной найденной нами работе французских авторов сообщается об увеличении содержания ФЦК-18 при АБП по мере прогрессирования фиброза и наличии корреляции ФЦК-18 с уровнем экспрессии TNF- $\alpha$  и трансформирующего фактора роста  $\beta$  в печени [3].

Известно иммуномодулирующее действие алкоголя, но эффект его в разных клинических ситуациях неоднозначен, поэтому до сих пор остается актуальной проблема изучения воздействия алкоголя на состояние иммунитета, особенно

быстрореагирующего врожденного иммунитета, при алкогольном поражении печени [4]. Исследователи находят рост концентрации цитокинов (TNF- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-18) при АБП [5–7]. В то же время имеются и противоположные мнения об иммунодепрессивном действии алкоголя и снижении цитокинов у лиц, употребляющих алкоголь [8–12]. Недостаточные данные о значении апоптоза гепатоцитов при АБП, а также противоречивые данные о цитокиновом воспалительном балансе при алкогольной интоксикации определяют необходимость изучения данной актуальной проблемы гепатологии.

**Цель исследования** – оценка печеночно-клеточного повреждения и иммунного воспаления при разных формах АБП.

## Материалы и методы

Обследованы 104 больных АБП: 15 (14,4%) СП, 19 (18,3%) СГ и 70 (67,3%) ЦП. Мужчин – 50 (48,1%), женщин – 54 (51,9%), средний возраст обследованных составил 45,7 $\pm$ 8,4 года. Диагноз АБП устанавливался на основании комплекса анамнестических, клинико-лабораторных, инструментальных данных. Факт регулярной алкогольной интоксикации подтверждался с помощью шкалы CAGE и при наличии алкогольных стигматов (контрактуры Дюпоитрена, гипертрофии околушных желез, симптома «бананоты», признаков полинейропатии), лабораторных данных: высокого уровня  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы (ГГТП), лейкоцитоза, макроцитарной анемии, преобладания аспартатаминотрансферазы (АСТ) над аланинаминотрансферазой – АЛТ (анализатор Random Access F-15, Biosystems, Испания). Для исключения неалкогольной жировой болезни печени использовали шкалу ANI (Alcoholic Liver Disease/Nonalcoholic Fatty Liver Disease Index) с помощью онлайн-калькулятора (<http://www.mayoclinic.org/gi-rst/mayo-model10.html>). Также у всех пациентов исключен вирусный, лекарственный и аутоиммунный генез поражения печени. СП диагностировали по данным абдоминальной сонографии (аппарат Vivid Pro-7, General Electric, США) при увеличении эхогенности печени, превышающей эхогенность селезенки и почки, а также по данным мультиспиральной компьютерной томографии (аппарат GE HiSpeed CT/e Plus, General Electric, США) при уменьшении плотности печени <40 Ед Хаунсфилда, нормальном уровне аминотрансфераз или не превышающем 1,5 нормы. СГ диагностировали при усилении эхогенности печени, увеличении уровня аминотрансфераз более 1,5 норм, наличии лабораторных показателей воспаления – увеличении скорости оседания эритроцитов, С-реактивного протеина (СРП), лейкоцитоза. ЦП диагностировали на основании комплекса клинико-лабораторных, сонографических, эзофагогастроскопических данных, результатов доплерографического исследования портального кровотока. Не вошли в исследование пациенты с острым алкогольным гепатитом, осложненным ЦП, острыми и хроническими бактериальными и вирусными инфекциями. Оценивались функциональные печеночные тесты, гемограмма, определялся уровень ФЦК-18 (тест-системы TPS ELISA, Biotech, Швеция), уровень ИЛ-1 $\beta$  («Интерлейкин-1 бета-

### Сведения об авторах:

*Родина Алиса Сергеевна* – ассистент каф. пропедевтики внутренних болезней и гигиены Медицинского института ФГБОУ ВО ПетрГУ. ORCID: 0000-0001-6311-3772

*Шубина Марина Эдуардовна* – доц. каф. пропедевтики внутренних болезней и гигиены Медицинского института ФГБОУ ВО ПетрГУ. ORCID: 0000-0002-4272-9612

*Курбатова Ирина Валерьевна* – к.б.н., ст. науч. сотр. лаб. генетики ИБ ФГБУН ФИЦ КарНЦ. ORCID: 0000-0001-7620-7065; Scopus ID: 6603406315

*Топчиева Людмила Владимировна* – к.б.н., вед. науч. сотр. лаб. генетики ИБ ФГБУН ФИЦ КарНЦ. ORCID: 0000-0001-8697-2086; Scopus ID: 15137309400

### Контактная информация:

*Дуданова Ольга Петровна* – д.м.н., проф., зав. каф. пропедевтики внутренних болезней и гигиены Медицинского института ФГБОУ ВО ПетрГУ. Тел.: +7(921)701-77-02; e-mail: odudanova@gmail.com; ORCID: 0000-0003-2613-5694; Scopus ID: 6603343207

Функциональные печеночные тесты, маркер апоптоза гепатоцитов, ИЛ при разных формах АБП и у здоровых лиц контрольной группы ( $M \pm m$ )

Показатели	Контрольная группа (n=39)	СП (n=15)	СГ (n=19)	ЦП (n=70)
АЛТ, Ед/л	19,5±3,5	27,6±9,5* <sup>†</sup>	71,4±33,4* <sup>#</sup>	65,3±53,5* <sup>#</sup>
АСТ, Ед/л	22,4±2,1	23,4±2,1* <sup>°</sup>	82,2±29,1* <sup>#°</sup>	126,5±48,5* <sup>#†</sup>
ФЦК-18, Ед/л	69,9±18,3	128,7±20,1* <sup>°°</sup>	367,8±20,1* <sup>#°</sup>	1592,2±32,3* <sup>#†</sup>
Билирубин, мкмоль/л	13,2±3,4	18,5±5,9* <sup>°</sup>	31,5±17,9* <sup>#°</sup>	201,4±68,3* <sup>#†</sup>
Билирубин прямой, мкмоль/л	3,1±2,3	3,7±3,8* <sup>°</sup>	11,0±5,6* <sup>#°</sup>	84,6±19,7* <sup>#†</sup>
Щелочная фосфатаза, Ед/л	132,6±14,3	189,6±51,7* <sup>°</sup>	278,3±92,1* <sup>#</sup>	247,6±21,6* <sup>#</sup>
ГГТП, Ед/л	32,6±4,1	96,8±7,5* <sup>°</sup>	289,7±69,2* <sup>#</sup>	236,0±27,5* <sup>#</sup>
Альбумин, г/л	42,0±3,1	43,0±2,3 <sup>°</sup>	42,9±4,8 <sup>°</sup>	27,8±5,9* <sup>#†</sup>
Протромбин, %	101,9±3,9	102,7±2,2 <sup>°</sup>	101,5±4,2 <sup>°</sup>	52,0±18,9* <sup>#†</sup>
Холестерин, ммоль/л	4,9±0,7	5,6±0,9* <sup>°</sup>	4,9±0,8* <sup>#°</sup>	3,7±0,6* <sup>#†</sup>
СРП, мг/л	2,1±1,2	3,7±0,9* <sup>°</sup>	14,5±3,9* <sup>#</sup>	11,4±5,2* <sup>#†</sup>
ИЛ-1β, пг/мл	3,2±1,2	4,8±0,9* <sup>°</sup>	4,8±1,2* <sup>°</sup>	6,9±2,3* <sup>#†</sup>
ИЛ-4, пг/мл	7,7±0,9	4,2±0,2* <sup>°</sup>	3,3±0,3* <sup>#°</sup>	2,6±0,4* <sup>#†</sup>
ИЛ-6, пг/мл	1,6±1,4	5,9±1,9* <sup>°</sup>	17,4±2,4* <sup>#°</sup>	47,4±9,6* <sup>#†</sup>
ИЛ-8, пг/мл	5,8±3,4	8,39±1,2* <sup>°</sup>	12,0±4,1* <sup>#°</sup>	32,0±5,3* <sup>#†</sup>
TNF-α, пг/мл	4,2±1,4	8,9±1,3* <sup>°</sup>	12,6±3,6* <sup>#°</sup>	16,9±4,4* <sup>#†</sup>

Примечание. Достоверная разница ( $p < 0,05$  согласно критерию U Вилкоксона–Манна–Уитни) по сравнению: \* с контрольной группой; <sup>#</sup> с группой СП; <sup>°</sup> с группой СГ; <sup>°°</sup> с группой ЦП.

ИФА-Бест»), TNF-α (набор), ИЛ-4 («Интерлейкин-4-ИФА-Бест»), ИЛ-6 («Интерлейкин-6-ИФА-Бест»), ИЛ-8 («Интерлейкин-8-ИФА-Бест») [«Вектор-Бест», Россия] на анализаторе Sunrise (Tecan, Швейцария). Контрольную группу составили 39 здоровых лиц: мужчин – 20 (51,2%), женщин – 19 (48,7%), возраст – 48,5±8,3 года (19–65). Статистическая обработка данных выполнялась с использованием программного обеспечения StatGraphics 2.1 (Statistical Graphics Corp., США). Рассчитывались средние значения показателей ( $M$ ), отклонения ( $m$ ), разница в группах оценивалась непараметрическим методом Вилкоксона–Манна–Уитни. Коррелятивные связи оценивались методом Спирмена. Значения  $p < 0,05$  рассматривались как статистически значимые.

## Результаты

При СП уровень аминотрансфераз, билирубина, альбумина, протромбина и холестерина не превышал референтных значений, достоверно возростал лишь уровень ФЦК-18 и ГГТП (см. таблицу). Уже на этой ранней стадии развития АБП отмечалось появление маркеров иммунновоспалительного синдрома: увеличивались по сравнению со здоровыми лицами уровни СРП, ИЛ-1β, TNF-α, ИЛ-6, ИЛ-8, а ИЛ-4, напротив, снижался.

При СГ по сравнению со СП возрастали маркеры некроза – АЛТ и АСТ, а также маркер апоптоза – ФЦК-18, уровень роста этих показателей являлся практически одинаковым – в 3,0 и 3,1 раза соответственно. Синтетическая функция гепатоцитов при СГ сохранялась на нормальном уровне, а воспалительные биомаркеры существенно превышали таковые при СП, особенно значимым был рост ИЛ-6 – в 4,4 раза, в меньшей степени – ИЛ-8 и TNF-α, не изменялся уровень ИЛ-1β, а содержание противовоспалительного цитокина ИЛ-4, напротив, снижалось.

При ЦП закономерно отмечалась значительная отрицательная динамика со стороны практически всех показателей воспаления и функционального состояния гепатоцитов, за исключением АЛТ. Активность АЛТ при ЦП снижалась, а

АСТ возрастала, что типично для конечной стадии развития АБП. Отмечался значительный рост ФЦК-18 – в 4,0 раза по сравнению со СГ, свидетельствуя о преобладающей роли апоптоза гепатоцитов, в то время как лизис клеток уменьшался. Динамика маркеров воспаления при ЦП по сравнению со СГ была менее выраженной, чем таковая маркеров печеночно-клеточного повреждения: увеличивался уровень ИЛ-6 и ИЛ-8 – в 2,7 раза, ИЛ-1β, TNF-α – в 1,3 раза. Динамика роста ИЛ-1β была незначительной, а уровень ИЛ-4 продолжал снижаться. О дисфункции гепатоцитов свидетельствовало падение уровня альбумина, СРП, протромбина и холестерина.

Отмечалась достоверная корреляция маркеров гепатоцитарного повреждения друг с другом и с цитокинами. Уровень ФЦК-18 прямо коррелировал с АСТ –  $r=0,62$  ( $p < 0,01$ ), билирубином –  $r=0,57$  ( $p < 0,01$ ) и АЛТ –  $r=0,51$  ( $p < 0,05$ ), цитокинами – ИЛ-6 –  $r=0,44$  ( $p < 0,05$ ), ИЛ-8 –  $r=0,41$  ( $p < 0,05$ ) и обратно коррелировал с протромбином –  $r=-0,51$  ( $p < 0,05$ ). Уровень АСТ коррелировал с ИЛ-6 –  $r=-0,42$  ( $p < 0,05$ ), АЛТ – с уровнем ИЛ-8 –  $r=0,41$  ( $p < 0,05$ ). ИЛ-8 и ИЛ-6 прямо коррелировали с СРП –  $r=0,68$  ( $p < 0,05$ ) и  $r=0,47$  ( $p < 0,05$ ) соответственно, с билирубином –  $r=0,45$  ( $p < 0,05$ ) и  $r=0,46$  ( $p < 0,05$ ), обратно – с холестерином –  $r=-0,55$  ( $p < 0,05$ ) и протромбином –  $r=-0,51$  ( $p < 0,05$ ) соответственно, а также прямо коррелировали друг с другом  $r=0,47$  ( $p < 0,05$ ). Выявлялась корреляционная связь между TNF-α и уровнем ФЦК-18 –  $r=0,44$  ( $p < 0,05$ ). Цитокины коррелировали между собой – ИЛ-6 с ИЛ-8 –  $r=0,47$  ( $p < 0,05$ ), с TNF-α –  $r=0,47$  ( $p < 0,05$ ).

## Обсуждение

Нами обнаружен значительный рост маркера апоптоза гепатоцитов – ФЦК-18 – по мере прогрессирования и утяжеления АБП от СП до СГ и ЦП. В отличие от аминотрансфераз, уровень которых при СП не отличался от такового у здоровых лиц, концентрация ФЦК-18 достоверно возрастала по сравнению со здоровыми донорами и продолжала увеличиваться при СГ, достигая максимального уровня при ЦП,

когда активность АЛТ уменьшалась. Такой диссонанс между показателями гепатоцитарного некроза и апоптоза мог быть обусловлен тем фактом, что при ЦП рост ФЦК-18 осуществлялся не только за счет апоптоза зрелых гепатоцитов, масса которых при ЦП уменьшалась, но и за счет гибели регенерирующих молодых незрелых прогениторных клеток, в которых еще не содержатся аминотрансферазы – ферменты, участвующие в процессе трансаминирования, но уже экспрессируются гены ФЦК-18, и в структуре клетки уже имеются промежуточные микрофиламенты [13, 14]. В условиях перестройки сосудистой сети и развивающейся гипоксии молодые клетки погибали путем апоптоза, не достигнув функциональной зрелости, в связи с чем уровень ФЦК-18 растет, а концентрация цитоплазматических ферментов не увеличивается.

Несмотря на то, что апоптоз является более щадящим видом клеточной гибели, при котором не происходит такой воспалительной реакции со стороны окружающей стромы, активация купферовских клеток и других стромальных клеток все же происходит, о чем свидетельствовали значительный рост концентрации провоспалительных цитокинов, особенно ИЛ-6 и ИЛ-8, у обследованных больных и прямая связь их с уровнем ФЦК-18. Связано это с тем, что во время апоптоза происходит экспрессия на мембране гепатоцитов сигнальных молекул, которые распознаются купферовскими клетками, и последние фагоцитируют апоптотические тельца, секретируя провоспалительные цитокины, хемокины, привлекающие из циркуляции моноциты и нейтрофилы в печень. При всех формах АБП максимальный рост среди всех ИЛ отмечался со стороны ИЛ-6, уровень его возрастал в 10 раз при ЦП по сравнению со СП. Менее выраженным был рост концентрации ИЛ-8 – в 4,5 раза при ЦП по сравнению со СП, но он тесно коррелировал с СРП, подтверждая свою роль в развитии воспаления.

Содержание TNF- $\alpha$  при всех формах АБП превышало норму, но динамика его была незначительной: уровень данного цитокина возрастал в среднем в 2 раза при ЦП по сравнению со СП. В то же время уровень TNF- $\alpha$  позитивно коррелировал с содержанием ФЦК-18, подтверждая свою роль в развитии апоптоза гепатоцитов.

Уровень других цитокинов – ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4 – изменялся по мере прогрессирования АБП менее значительно. Как известно, ИЛ-1 $\beta$  секретируется одним из первых провоспалительных цитокинов под действием каспазы-1, освобождающейся при активации инфламмосом, инициируя рекрутинг иммунных клеток в очаг повреждения, уступая роль другим цитокинам в последующем развитии воспалительного процесса [15]. Имеются данные о роли ИЛ-1 $\beta$  в развитии острого алкогольного гепатита и острой печеночной недостаточности в эксперименте на животных [15].

Противовоспалительный ИЛ-4 секретируется иммунными клетками с защитной ограничительной функцией, но уровень его у обследованных больных всеми формами АБП был ниже, чем у здоровых лиц, и не мог эффективно контролировать некротически-воспалительный процесс. Патогенетическая и диагностическая роль ИЛ-4, по нашим данным, несущественна. Некоторые авторы выявляли рост ИЛ-4 при остром алкогольном гепатите, хотя и не находили его связи со смертностью от данной патологии [16].

В отношении ИЛ-6 существуют различные мнения: с одной стороны, ИЛ-6 рассматривается как провоспалитель-

ный цитокин, с другой стороны, обсуждается его гепатопротекторная, антиапоптотическая и регенераторная роль [17–21]. Наше исследование продемонстрировало самый значительный рост содержания ИЛ-6 при развитии АБП от СП до ЦП по сравнению с другими цитокинами и прямую связь уровня ИЛ-6 с СРП, ФЦК-18 и обратную связь с показателями синтетической функции печени. Наши результаты противоречили мнению некоторых авторов о защитной роли ИЛ-6, а в большей степени подтверждали провоспалительный, проапоптотический и дисфункциональный эффект ИЛ-6 при АБП. Польские исследователи выявляли высокий уровень ИЛ-6 при классе В и С алкогольного ЦП [20], мы же обнаруживали повышенный уровень данного цитокина уже на стадии СГ. Мы также выявили динамику роста ИЛ-8 с увеличением тяжести АБП у обследованных пациентов и позитивную корреляцию между концентрацией ИЛ-8 и маркерами печеночно-клеточного повреждения, воспаления и отрицательную корреляцию с показателями синтетической функции гепатоцитов. Как известно, ИЛ-8 является основным хемокином, обеспечивающим рекрутинг нейтрофилов в печеночную ткань при остром повреждении печени, и чаще его повышенный уровень выявляют при остром алкогольном гепатите [7, 21, 22].

## Заключение

Наше исследование продемонстрировало, что при прогрессировании АБП от СП до СГ печеночно-клеточное повреждение осуществляется в одинаковой степени выраженными процессами некроза и апоптоза гепатоцитов, о чем свидетельствуют параллельный рост и тесная корреляционная связь аминотрансфераз и ФЦК-18. При дальнейшем развитии АБП до конечной стадии – ЦП уровень АЛТ снижается, а ФЦК-18 продолжает увеличиваться, свидетельствуя о том, что утрата паренхиматозной ткани при ЦП происходит преимущественно за счет апоптоза гепатоцитов. Иммуновоспалительный процесс по мере развития АБП от стеатоза до ЦП прогрессивно нарастает, что подтверждается ростом провоспалительных ИЛ-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , ИЛ-6 и ИЛ-8 и снижением противовоспалительного ИЛ-4. Самую значительную динамику при этом демонстрируют ИЛ-6 и ИЛ-8, прямо коррелируя с показателями печеночно-клеточного воспаления и обратно – с показателями печеночно-клеточной синтетической функции. Данные цитокины могут служить в качестве чувствительных маркеров воспаления при АБП.

## Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Работа выполнена в рамках Программы развития опорного университета ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет» на период 2017–2021 гг. – проект «Высокие биомедицинские технологии здоровьесбережения населения в арктической и субарктической зонах», проекта «Разработка метода диагностики алкогольной болезни печени с использованием биомаркеров фиброза, апоптоза и иммунного воспаления» №12467ГУ/2017 от 02.04.2018 и в рамках государственного задания по теме №0218-2019-0077 на научном оборудовании Центра коллективного пользования ФГБУН «Федеральный исследовательский центр "Карельский научный центр"».*



## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Маев И.В., Абдурахманов Д.Т., Андреев Д.Н., Дичева Д.Т. Алкогольная болезнь печени: современное состояние проблемы. *Терапевтический архив*. 2014;86(4):108-16 [Maev IV, Abdurahmanov DT, Andreev DN, Dicheva DT. Alcoholic liver disease: current state of the problem. *Terapevticheskiy Arkhiv (Ter. Arkh.)*. 2014;86(4):108-16 (In Russ.)]. Available at: <http://ter-arkhiv.ru/0040-3660/article/view/31527>
2. Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С., и др. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени по ведению взрослых пациентов с алкогольной болезнью печени. *РЖГГК*. 2017;27(6):20-40 [Ivashkin VT, Maevskaja MV, Pavlov ChS, et al. Clinical recommendations of the Russian Society for the Study of the Liver for the management of adult patients with alcoholic liver disease. *RZhGGK*. 2017;27(6):20-40 (In Russ.)]. doi: 10.22416/1382-4376-2017-27-6-20-40
3. 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(3):e17599. doi: 10.1371/journal.pone.0017599
4. Kany Sh, Janicova A, Relja B. Innate Immunity and Alcohol. *J Clin Med*. 2019;8:1981. doi: 10.3390/jcm8111981
5. Wang HJ, Gao B, Zakhari S, Nagy LE. Inflammation in alcoholic liver disease. *Ann Rev Nutr*. 2012;32:343-68. doi: 10.1146/annurev-nutr-072610-145138
6. Tilg H, Moschen AR, Szabo G. Interleukin-1 and inflammasomes in alcoholic liver disease/acute alcoholic hepatitis and nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2016;64:955-65. doi: 10.1002/hep.28456
7. Patel OP, Noor MT, Kumar R, Thakur BS. Serum interleukin 8 and 12 levels predict severity and mortality in patients with alcoholic hepatitis. *Indian J Gastroenterol*. 2015;34(3):209-15. doi: 10.1007/s12664-015-0565-4
8. Nurmi K, Virkanen J, Rajamäki K, et al. Ethanol inhibits activation of NLRP3 and AIM2 inflammasomes in human macrophages – A novel anti-inflammatory action of alcohol. *PLoS One*. 2013;8(11):e78537. doi: 10.1371/journal.pone.0078537
9. Relja B, Menke J, Wagner N, et al. Effects of positive blood alcohol concentration on outcome and systemic interleukin-6 in major trauma patients. *Injury*. 2016;47(3):640-5. doi: 10.1016/j.injury.2016.01.016
10. Wagner N, Akbarpour A, Mors K, et al. Alcohol Intoxication Reduces Systemic Interleukin-6 Levels and Leukocyte Counts After Severe TBI Compared With Not Intoxicated TBI Patients. *Shock*. 2016;46(3):261-9. doi: 10.1097/SHK.0000000000000620
11. Hoyt LR, Ather JL, Randall MJ, et al. Ethanol and Other Short-Chain Alcohols Inhibit NLRP3 Inflammasome Activation through Protein Tyrosine Phosphatase Stimulation. *J Immunol*. 2016;197:1322-34. doi: 10.4049/jimmunol.1600406
12. Chen YF, Tseng ChY, Wang H-W, et al. Rapid Generation of Mature Hepatocyte-Like Cells from Human Induced Pluripotent Stem Cells by an Efficient Three-Step Protocol. *Hepatology*. 2012;55(4):1193-203. doi: 10.1002/hep.24790
13. Jeong J, Kim KN, Chung MS, Kim HJ. Functional comparison of human embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells as sources of hepatocyte-like cells. *Tissue Eng Regen Med*. 2016;13(6):740-9. doi: 10.1007/s13770-016-0094-y
14. Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell*. 2014;157:1013-22. doi: 10.1016/j.cell.2014.04.007
15. Gehrke N, Hövelmeyer N, Waisman A, et al. Hepatocyte-specific deletion of IL-1RI attenuates liver injury by blocking IL-1 driven autoinflammation. *J Hepatol*. 2018;68(5):986-95. doi: 10.1016/j.jhep.2018.01.008
16. 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(5):433-40. doi: 10.1016/j.alcohol.2011.10.001
17. Gao B, Seki E, Brenner DA, et al. Innate immunity in alcoholic liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2011;300(4):G516-25. doi: 10.1152/ajpgi.00537.2010
18. Schaper F, Rose-John S. Interleukin-6: Biology, signaling and strategies of blockade. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2015;26(5):475-87.
19. Wan J, Benkdane M, Alons E, et al. M2 kupffer cells promote hepatocyte senescence: an IL-6-dependent protective mechanism against alcoholic liver disease. *Am J Pathol*. 2014;184(6):1763-72. doi: 10.1016/j.ajpath.2014.02.014
20. Gudowska-Sawczuk M, Wrona A, Gruszewska E, et al. Serum level of interleukin-6 (IL-6) and N-terminal propeptide of procollagen type I (PINP) in patients with liver diseases. *Scand J Clin Lab Invest*. 2018;78(1-2):125-30. doi: 10.1080/00365513.2017.1420217
21. Li W, Amet T, Xing Y, et al. Alcohol abstinence ameliorates the dysregulated immune profiles in patients with alcoholic hepatitis: a prospective observational study. *Hepatology*. 2017;66(2):575-90. doi: 10.1002/hep.29242
22. Sasaki T, Suzuki Y, Kakisaka K, et al. IL-8 induces transdifferentiation of mature hepatocytes toward the cholangiocyte phenotype. *FEBS Open Bio*. 2019;9(12):2105-16. doi: 10.1002/2211-5463.12750

Поступила 23.01.2020