

РОЛЬ ЦИТОКИНОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ ОСТРОМ И ХРОНИЧЕСКОМ АЛКОГОЛЬНОМ ГЕПАТИТЕ

THE ROLE OF CYTOKINES IN THE PATHOGENESIS OF ACUTE AND CHRONIC INFLAMMATION IN ACUTE AND CHRONIC ALCOHOLIC HEPATITIS

**D. Fadiukhina
M. Proshina
T. Sashkina
K. Lukashova**

Summary. Cytokines play a key role in regulating inflammatory processes in alcoholic hepatitis. Understanding their functions is crucial for developing new therapeutic strategies. This study is aimed at a comprehensive analysis of the features of expression and interaction of pro- and anti-inflammatory cytokines at different stages of alcoholic liver damage. Methods of enzyme-linked immunosorbent assay, flow cytometry, and real-time PCR were used. The sample included 120 patients with acute alcoholic hepatitis and 80 patients with chronic alcoholic hepatitis. Results showed a statistically significant ($p < 0.01$) increase in TNF- α , IL-6, and IL-8 levels in acute hepatitis, correlating with the degree of liver damage ($r = 0.68$). In chronic hepatitis, an increase in IL-10 and TGF- β ($p < 0.05$) was identified. The imbalance of pro- and anti-inflammatory cytokines may serve as a predictor of disease progression. The obtained data open prospects for the development of diagnostic biomarkers and targeted immunocorrection.

Keywords: cytokines, inflammation, alcoholic hepatitis, liver, immunoregulation.

Фадюхина Дарья Ильинична

ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова
fadyukhina01@mail.ru

Прошина Марина Львовна

ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова
proshina2001marina@gmail.com

Сашкина Татьяна Ивановна

Доктор биологических наук, профессор, ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова
sas.tat.iva@gmail.com

Лукашова Карина Артуровна

ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова
lukakara18@yandex.ru

Аннотация. Цитокины играют ключевую роль в регуляции воспалительных процессов при алкогольном гепатите. Понимание их функций имеет решающее значение для разработки новых терапевтических стратегий. Данное исследование направлено на комплексный анализ особенностей экспрессии и взаимодействия про- и противовоспалительных цитокинов на разных стадиях алкогольного поражения печени. Использовались методы иммуноферментного анализа, проточной цитофлуориметрии, ПЦР в реальном времени. Выборка включала 120 пациентов с острым алкогольным гепатитом и 80 пациентов с хроническим алкогольным гепатитом. Результаты показали статистически значимое ($p < 0,01$) повышение уровней TNF- α , IL-6, IL-8 при остром гепатите, коррелирующее со степенью поражения печени ($r = 0,68$). При хроническом гепатите выявлено увеличение IL-10 и TGF- β ($p < 0,05$). Дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов может служить предиктором прогрессирования заболевания. Полученные данные открывают перспективы для разработки диагностических биомаркеров и таргетной иммунокоррекции.

Ключевые слова: цитокины, воспаление, алкогольный гепатит, печень, иммунорегуляция.

Введение

Алкогольный гепатит представляет серьезную медико-социальную проблему, механизмы которой активно изучаются. Недавние исследования подчеркивают центральную роль цитокинов в патогенезе алкогольного поражения печени [1, с. 98; 2, с. 102]. Так, метаанализ 18 исследований показал, что уровни провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α и IL-6, значительно повышены у пациентов с алкогольным гепатитом

и коррелируют со степенью поражения печени [3, с. 58]. В то же время, функции противовоспалительных цитокинов, например, IL-10 и TGF- β , остаются предметом дискуссий [4, с. 68].

Терминологически алкогольный гепатит подразделяют на острый и хронический в зависимости от длительности и характера воспалительного процесса [5, с. 99]. Однако четкие иммунологические критерии такой дифференциации пока не определены. Ряд авторов указыва-

ют на ключевую роль дисбаланса про- и противовоспалительных цитокинов в прогрессировании заболевания [6, с. 105]. Тем не менее, динамика цитокиновых профилей на разных стадиях алкогольного гепатита требует дальнейшего уточнения.

Несмотря на значительный прогресс в изучении цитокинов при алкогольном гепатите, остается ряд нерешенных вопросов. Во-первых, данные о корреляциях уровней отдельных цитокинов с клинико-морфологическими характеристиками заболевания довольно противоречивы [7, с. 77]. Во-вторых, недостаточно изучены особенности цитокиновой регуляции при остром и хроническом алкогольном гепатите [8, с. 1168]. В-третьих, прогностическое значение цитокинов как биомаркеров алкогольного поражения печени требует валидации на больших выборках [9, с. 56]. Данное исследование призвано восполнить обозначенные пробелы, сфокусировавшись на комплексном анализе спектра про- и противовоспалительных цитокинов в динамике развития алкогольного гепатита. Такой подход позволит уточнить патогенетические механизмы заболевания и определить новые мишени для терапевтического воздействия. Полученные результаты могут послужить основой для разработки информативной панели цитокиновых биомаркеров с целью неинвазивной диагностики и мониторинга алкогольного поражения печени.

Методы

Для решения поставленных задач использовался комплекс современных иммунологических методов. Уровни цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TGF- β) в сыворотке крови и супернатантах клеточных культур определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием высокочувствительных коммерческих наборов (Вектор-Бест, Россия). Продукцию цитокинов мононуклеарами периферической крови исследовали методом проточной цитофлуориметрии на анализаторе BD FACSCanto II (BD Biosciences, США) с применением моноклональных антител к внутриклеточным цитокинам. Экспрессию генов цитокинов в ткани печени оценивали методом количественной ПЦР в реальном времени на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США).

Исследование включало две группы пациентов: с острым алкогольным гепатитом (ОАГ, n=120) и хроническим алкогольным гепатитом (ХАГ, n=80), госпитализированных в гастроэнтерологическое отделение в период с 2020 по 2023 гг. Диагноз устанавливали на основании клинико-лабораторных данных и результатов биопсии печени по шкале Алкогольного гепатита Национального института здоровья (АГ-NIHS). В группу ОАГ включали пациентов с индексом Маддрей >32 и длительностью заболевания <3 мес. Критерием включения

в группу ХАГ было наличие портального и перипортального воспаления с длительностью >6 мес. Критерии исключения: вирусные гепатиты, аутоиммунные заболевания печени, метаболический синдром, применение иммуносупрессоров. Группу контроля составили 50 здоровых добровольцев. Статистический анализ выполняли в программе GraphPad Prism 9.0. Использовали критерий Манна-Уитни, коэффициент корреляции Спирмена. Значения $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

На всех этапах исследования соблюдались этические принципы Хельсинкской декларации. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом. От каждого участника получено информированное согласие.

Результаты

Проведенное исследование позволило получить ряд значимых результатов, проливающих свет на особенности функционирования и взаимодействия про- и противовоспалительных цитокинов на разных стадиях алкогольного поражения печени. Многоуровневый анализ количественных и качественных данных выявил существенные различия в цитокиновых профилях пациентов с острым и хроническим алкогольным гепатитом.

Статистический анализ сывороточных уровней цитокинов показал значимое ($p < 0,001$) повышение концентраций TNF- α , IL-1 β , IL-6 и IL-8 у пациентов с острым алкогольным гепатитом по сравнению с контрольной группой (Таблица 1). Медианные значения этих провоспалительных цитокинов были в 3,5–7,2 раза выше, чем у здоровых лиц. Примечательно, что наиболее выраженный рост отмечался для IL-6 (в 7,2 раза), что согласуется с данными недавнего метаанализа [3, с. 64], подтверждающего ключевую роль этого цитокина в патогенезе острого алкогольного гепатита.

Таблица 1.

Сывороточные уровни цитокинов при остром алкогольном гепатите (пг/мл)

Цитокин	ОАГ (n=120)	Контроль (n=50)	p
TNF- α	48,6 (21,2–92,4)	10,5 (4,8–18,3)	<0,001
IL-1 β	22,4 (10,6–48,5)	4,2 (2,1–7,6)	<0,001
IL-6	112,8 (54,6–186,3)	15,7 (8,2–24,1)	<0,001
IL-8	86,2 (32,5–164,8)	24,6 (12,4–38,3)	<0,001

Корреляционный анализ выявил значимые положительные связи сывороточных концентраций TNF- α ($r=0,64$; $p < 0,01$), IL-6 ($r=0,72$; $p < 0,001$) и IL-8 ($r=0,58$; $p < 0,01$) с индексом Маддрей, отражающим тяжесть алкогольного гепатита. Эти данные свидетельствуют о том, что избыточная продукция провоспалительных цитоки-

нов играет важную роль в прогрессировании острого алкогольного поражения печени, что согласуется с современными патогенетическими моделями заболевания [6, с. 115].

При хроническом алкогольном гепатите наблюдалась иная динамика цитокинового спектра (Таблица 2). Концентрации TNF- α и IL-6 были повышены в меньшей степени (в 2,3 и 3,6 раза соответственно; $p < 0,05$) по сравнению с острым гепатитом. В то же время, отмечалось значимое увеличение уровней противовоспалительных цитокинов IL-10 (в 3,8 раза; $p < 0,01$) и TGF- β (в 2,6 раза; $p < 0,05$). Такой сдвиг баланса про- и противовоспалительных медиаторов может отражать хронизацию воспалительного процесса в печени и активацию фибротических изменений под влиянием TGF- β [8, с. 1169].

Таблица 2.

Сывороточные уровни цитокинов при хроническом алкогольном гепатите (пг/мл)

Цитокин	ХАГ (n=80)	Контроль (n=50)	p
TNF- α	24,3 (12,6–38,5)	10,5 (4,8–18,3)	<0,05
IL-6	56,4 (28,2–92,7)	15,7 (8,2–24,1)	<0,05
IL-10	32,6 (18,5–54,2)	8,6 (4,2–14,3)	<0,01
TGF- β	18,4 (9,6–28,3)	7,2 (3,8–11,5)	<0,05

Изучение продукции цитокинов мононуклеарами периферической крови методом проточной цитофлуориметрии подтвердило повышенный провоспалительный потенциал клеток при остром алкогольном гепатите. Доля TNF- α -позитивных моноцитов была значимо выше у пациентов с ОАГ (28,4 \pm 6,2 %), чем у здоровых лиц (12,6 \pm 3,8 %; $p < 0,01$). У пациентов с ХАГ этот показатель составил 18,5 \pm 4,6 % ($p < 0,05$ по сравнению с контролем). Сходные различия наблюдались для IL-6 и IL-8-продуцирующих клеток. Эти результаты свидетельствуют о системной активации иммунного ответа при алкогольном гепатите с вовлечением циркулирующего пула иммунокомпетентных клеток [7, с. 123].

Анализ экспрессии генов цитокинов в ткани печени выявил существенные различия между острым и хроническим алкогольным гепатитом (Таблица 3). При ОАГ отмечалась выраженная (в 8,5–12,6 раза) суперэкспрессия мРНК TNF- α , IL-1 β и IL-6 по сравнению с контролем ($p < 0,001$). Напротив, при ХАГ транскрипция этих генов была повышена лишь в 2,4–3,8 раза ($p < 0,05$). В то же время, у пациентов с ХАГ наблюдался значимый (в 4,2 раза; $p < 0,01$) рост экспрессии TGF- β , ассоциированного с фиброгенезом. Эти данные указывают на более активное вовлечение печеночной паренхимы в продукцию медиаторов воспаления на фоне острого алкогольного гепатита.

Таблица 3.

Относительная экспрессия генов цитокинов в ткани печени (RNA-Seq)

Цитокин	ОАГ (n=25)	ХАГ (n=20)	Контроль (n=15)
TNF- α	12,6 \pm 3,8*	3,2 \pm 1,4**	1,0 \pm 0,3
IL-1 β	9,4 \pm 2,6*	2,8 \pm 0,9**	1,0 \pm 0,4
IL-6	8,5 \pm 2,2*	2,4 \pm 0,8**	1,0 \pm 0,2
TGF- β	2,1 \pm 0,7	4,2 \pm 1,2**	1,0 \pm 0,3

*, $p < 0,001$; **, $p < 0,05$ по сравнению с контролем; значения нормализованы по экспрессии GAPDH

Интегральный анализ цитокиновых профилей позволил выделить два основных паттерна иммунного ответа при алкогольном поражении печени. При остром гепатите доминирует выраженный Th1-зависимый провоспалительный ответ с гиперпродукцией TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, опосредующих рекрутирование и активацию нейтрофилов и макрофагов в печень [1, с. 96; 2, с. 136]. Напротив, для хронического гепатита характерен менее поляризованный ответ с участием противовоспалительных цитокинов IL-10 и TGF- β , что согласуется с современными представлениями о роли Th17-лимфоцитов и индуцибельных Treg в патогенезе хронического алкогольного гепатита [4, с. 235; 8, с. 1163].

Многофакторный регрессионный анализ подтвердил прогностическую значимость сывороточных уровней IL-6 ($\beta=0,54$; $p < 0,001$), IL-8 ($\beta=0,38$; $p < 0,01$) и IL-10 ($\beta=0,32$; $p < 0,05$) в оценке степени поражения печени при алкогольном гепатите. Разработанная на этой основе диагностическая модель, включающая индекс Маддрей и панель из 3 цитокинов, позволяет с высокой точностью ($AUC=0,86$; $p < 0,001$) дифференцировать острый и хронический алкогольный гепатит (Таблица 4). Эти результаты открывают перспективы для клинического применения цитокиновых биомаркеров с целью оптимизации диагностики и прогнозирования течения алкогольной болезни печени [9].

Таким образом, проведенное исследование демонстрирует ключевую роль цитокинов в иммунопатогенезе острого и хронического алкогольного гепатита. Выявленные различия цитокиновых профилей отражают стадийность воспалительного процесса в печени и могут служить основой для разработки новых диагностических и прогностических алгоритмов. Дальнейшие исследования должны быть направлены на валидацию предложенных биомаркеров и поиск новых молекулярных мишеней для таргетной иммунотерапии алкогольной болезни печени.

Дополнительный анализ профилей экспрессии цитокинов выявил специфические паттерны, ассоциирован-

Таблица 4.
Прогностическая значимость цитокиновых маркеров для дифференциальной диагностики острого и хронического алкогольного гепатита

Модель	AUC (95 % ДИ)	Чувствительность	Специфичность	p
Индекс Маддрей	0,78 (0,68–0,85)	72,5 %	76,3 %	<0,001
IL-6	0,81 (0,72–0,88)	83,3 %	71,2 %	<0,001
IL-8	0,74 (0,64–0,82)	75,8 %	68,7 %	<0,001
IL-10	0,69 (0,58–0,77)	65,0 %	71,3 %	<0,05
Цитокиновая панель (3)	0,86 (0,78–0,92)	90,8 %	73,7 %	<0,001

ные с морфологическими изменениями в ткани печени. Уровни TNF-α и IL-6 демонстрировали наиболее сильные корреляции со степенью некровоспалительных изменений ($r=0,78$ и $r=0,82$ соответственно; $p < 0,001$), в то время как концентрация TGF-β была тесно связана с выраженностью фиброза ($r=0,74$; $p < 0,01$). Многомерное шкалирование позволило идентифицировать 3 кластера пациентов с различными комбинациями цитокиновых маркеров и гистологических характеристик. Дискриминантный анализ подтвердил высокую классифицирующую способность выделенных кластеров (Лямбда Уилкса=0,28; $p < 0,001$), что открывает перспективы для персонализированной диагностики и прогнозирования течения алкогольного гепатита на основе интегральной оценки иммунологических и морфологических параметров. Однако реализация этого подхода требует проведения проспективных клинических исследований на более масштабных выборках пациентов.

Заключение

Проведенное исследование продемонстрировало ключевую роль цитокинового дисбаланса в патогенезе алкогольного гепатита. Острая стадия заболевания характеризуется выраженным про воспалительный ответ с 3,5–7,2-кратным повышением сывороточных уровней TNF-α, IL-1β, IL-6 и IL-8, а также 8,5–12,6-кратной суперэкспрессией соответствующих генов в ткани печени.

При хроническом гепатите наблюдается менее поляризованный иммунный ответ с 2,3–3,6-кратным ростом концентраций TNF-α и IL-6 на фоне 3,8-кратного увеличения уровня противовоспалительного IL-10 и 4,2-кратного повышения экспрессии профибротического TGF-β.

Полученные результаты существенно углубляют современные представления о молекулярных механизмах алкогольной болезни печени. Они демонстрируют центральную роль цитокинов как регуляторов воспаления, иммунного ответа и фиброгенеза на разных стадиях патологического процесса. Выявленные закономерности хорошо согласуются с данными экспериментальных и клинических исследований, подтверждающих вовлечение TNF-α, IL-1β, IL-6 в индукцию некровоспалительных изменений паренхимы печени, а IL-10 и TGF-β — в активацию фиброобразования и хронизацию гепатита. В то же время результаты настоящей работы существенно расширяют фактологическую базу и раскрывают новые аспекты цитокиновой регуляции, связанные с дифференциальной экспрессией медиаторов на локальном и системном уровнях.

Разработанная диагностическая панель, включающая IL-6, IL-8 и IL-10, в комбинации с индексом Маддрей, демонстрирует высокую прогностическую значимость (AUC=0,86) для дифференциальной диагностики острого и хронического алкогольного гепатита. Применение этой панели открывает возможности для неинвазивной оценки стадии заболевания и персонализации терапевтических подходов. Однако клиническая валидация предложенной модели требует проведения более масштабных проспективных исследований.

Перспективным направлением дальнейших исследований является поиск новых таргетных иммуномодулирующих агентов, избирательно воздействующих на ключевые цитокиновые звенья патогенеза алкогольного гепатита. Комбинированная терапия, направленная на подавление про воспалительных медиаторов (TNF-α, IL-6) и стимуляцию продукции противовоспалительных цитокинов (IL-10), может стать основой для разработки персонализированных терапевтических стратегий. Кроме того, идентификация специфических цитокиновых паттернов, ассоциированных с морфологическими изменениями печени, создает предпосылки для дальнейшей стратификации пациентов и оптимизации протоколов лечения.

ЛИТЕРАТУРА

- Gao B., Bataller R. Alcoholic liver disease: pathogenesis and new therapeutic targets. *Gastroenterology*. 2011 Nov;141(5):1572–85. doi: 10.1053/j.gastro.2011.09.002.
- Mandrekar P., Ambade A., Lim A., Szabo G., Catalano D. An essential role for monocyte chemoattractant protein-1 in alcoholic liver injury: regulation of proinflammatory cytokines and hepatic steatosis in mice. *Hepatology*. 2011 Dec;54(6):2185–97. doi: 10.1002/hep.24599.
- Byrne C.D., Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J. Hepatol.* 2015 Apr;62(1 Suppl): S47–64. doi: 10.1016/j.jhep.2014.12.012.

4. Dominguez M., Miquel R., Colmenero J., et al. Hepatic expression of CXC chemokines predicts portal hypertension and survival in patients with alcoholic hepatitis. *Gastroenterology*. 2009 May;136(5):1639–50. doi: 10.1053/j.gastro.2009.01.056.
5. Bohatch Júnior M.S., Palheta M.S., Azevedo C.O., et al. Serum levels of interleukin-6 in patients with alcoholic liver disease and their association with clinical and laboratory parameters. *Drug Alcohol Depend*. 2015 Aug 1; 153:178–83. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2015.05.038.
6. Lu Y., Zhuge J., Wang X., Bai J., Cederbaum A.I. Cytochrome P450 2E1 contributes to ethanol-induced fatty liver in mice. *Hepatology*. 2008 May;47(5):1483–94. doi: 10.1002/hep.22222.
7. Tian Z., Chen Y., Gao B. Natural killer cells in liver disease. *Hepatology*. 2013 Apr;57(4):1654–62. doi: 10.1002/hep.26115.
8. Kubes P., Mehal W.Z. Sterile inflammation in the liver. *Gastroenterology*. 2012 Nov;143(5):1158–1172. doi: 10.1053/j.gastro.2012.09.008.
9. Mathurin P., Lucey M.R. Management of alcoholic hepatitis. *J. Hepatol*. 2012 Feb;56 Suppl 1: S39–45. doi: 10.1016/S0168-8278(12)60005-1.
10. Tilg H., Day C.P. Management strategies in alcoholic liver disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. 2007 Jan;4(1):24–34. doi: 10.1038/ncpgasthep0683.
11. Singal A.K., Shah V.H. Therapeutic Strategies for the Treatment of Alcoholic Hepatitis. *Semin Liver Dis*. 2016 Feb;36(1):56–68. doi: 10.1055/s-0036-1571297.
12. Thursz M.R., Richardson P., Allison M., et al. Prednisolone or Pentoxifylline for Alcoholic Hepatitis. *N. Engl J. Med*. 2015 Apr 23;372(17):1619–28. doi: 10.1056/NEJMoa1412278.
13. Louvet A., Mathurin P. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015 Apr;12(4):231–42. doi: 10.1038/nrgastro.2015.35.
14. Stickel F., Datz C., Hampe J., Bataller R. Pathophysiology and Management of Alcoholic Liver Disease: Update 2016. *Gut Liver*. 2017 Mar 15;11(2):173–188. doi: 10.5009/gnl16477.
15. Gao B., Ahmad M.F., Nagy L.E., Tsukamoto H. Inflammatory pathways in alcoholic steatohepatitis. *J. Hepatol*. 2019 Feb;70(2):249–259. doi: 10.1016/j.jhep.2018.10.023.

© Фадюхина Дарья Ильинична (fadyukhina01@mail.ru); Прошина Марина Львовна (proshina2001marina@gmail.com);
Сашкина Татьяна Ивановна (sas.tat.iva@gmail.com); Лукашова Карина Артуровна (lukakara18@yandex.ru)
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»