

Алкогольная болезнь печени: иммунологические механизмы патогенеза

НИКИТИН И.Г.

профессор кафедры госпитальной терапии №2 лечебного факультета
ГОУ ВПО «Российский государственный медицинский университет»

Приведены современные представления об иммунных механизмах развития алкогольной болезни печени. Дана характеристика клинических и морфологических вариантов повреждения печени при алкогольной болезни, представлены современные подходы к ее лечению.

Введение

Несмотря на достаточно большое количество публикаций в медицинской литературе, посвященных проблеме алкогольного поражения печени, практический и теоретический интерес к затронутой проблеме остается чрезвычайно высоким. Это связано с несколькими обстоятельствами, среди которых следует упомянуть прежде всего высокую медико-социальную значимость заболевания [1, 2].

Многие исследователи придерживаются мнения, что риск поражения печени, ассоциированный с этаноловым воздействием, напрямую зависит как от дозы употребляемого алкоголя, так и продолжительности этого употребления: ежедневное употребление 40—80 г чистого этанола в день на протяжении 4—6 лет ассоциировано с высоким риском развития алкогольной болезни. Данное количество алкоголя содержится в 150—200 мл водки, 500 мл сухого вина или 900 мл пива. Подобная доза алкоголя теоретически может быть позиционирована как «критическая» больше по отношению к мужской части населения, в отношении женщин подобная доза может быть ограничена 20—35 мл чистого этанола. Следует также подчеркнуть, что развитие алкогольной болезни печени не зависит от типа употребляемых спиртных напитков [2].

С точки зрения медико-социальной значимости алкогольной болезни печени весьма показательны размеры финансовых затрат, связанных с данной патологией, например в США: за 2004 г. медицинские учреждения израсходовали 2,2 млрд долл. по строке «алкоголизм и ассоциированные поражения внутренних органов», а на программы реабилитации для алкоголиков из государственного бюджета и многочисленных частных фондов было израсходовано более 1,8 млрд долл. [1, 2, 3].

Особый интерес исследователей в последнее время привлекают иммунологические механизмы патогенеза АБП, позволяющие, с одной стороны, лучше понять основные звенья печеночного повреждения при этом заболевании, с другой, — наметить перспективные фармакологические подходы к его лечению. Действительно, многие исследования последнего времени подтверждают выраженные нарушения иммунного ответа у пациентов, злоупотребляющих алкоголем. Клинические проявления АБП характеризуются большим разнообразием, отражающим различные варианты иммунного повреждения печени. Дополнительным фактором, свидетельствующим о включении иммунных механизмов повреждения при АБП, например, являются сообщения о чрезвычайно быстром повреждении печени (морфологическое подтверж-

денное развитие алкогольного гепатита) у пациентов, возобновивших прием алкоголя после длительного периода абстиненции. Среди феноменов, характеризующих выраженные иммунологические сдвиги у пациентов с АБП, описаны гипергаммаглобулинемия, циркулирующие аутоантитела, присутствие CD4⁺-лимфоцитов в области дегенерации гепатоцитов, быстрое развитие фиброза у пациентов, перенесших трансплантацию печени по поводу алкогольного цирроза на фоне возобновления приема пусть даже небольших доз алкоголя [4, 5]. В некоторых работах, *in vitro/in vivo*, было продемонстрировано, что алкоголь изменяет основные фазы иммунного ответа путем формирования аутоантигенов, способствуя запуску цитокинового каскада, вызывающего цитоллиз, фиброз и клеточную регенерацию [6].

Гистопатология алкогольного гепатита характеризуется стеатозом и гепатоцеллюлярным повреждением, связанным с клеточной инфильтрацией, а также развитием фиброза. Характерная лобулярная инфильтрация полиморфноклеточными элементами обычно позволяет четко отделить алкогольное повреждение печени от других форм печеночного повреждения. Алкогольный цирроз печени обычно развивается после повторных эпизодов алкогольного гепатита и является последней морфологической стадией АБП. Гепатоцеллюлярное повреждение, а также, возможно, прямое действие альдегидов способствует активации коллагенформирующих непаренхиматозных клеток печени, индуцируя печеночный фиброз [7, 8]. Дополнительно было также показано, что хроническое злоупотребление алкоголем ведет к подавлению стимуляции пролиферации гепатоцитов, ассоциированной с триггерными механизмами естественной клеточной смерти. С этим феноменом, например, связывают малые размеры гепатоцитов в областях, где клетки не регенерируют, у пациентов с алкогольным циррозом печени (микронодулярный цирроз). Все вышеперечисленное лишь раз свидетельствует о том, что прямая гепатотоксичность этанолового алкоголя и его метаболитов является лишь звеном в цепи сложных патогенетических нарушений, реализуемых в АБП, где значительная роль иммунных механизмов совершенно очевидна.

Факторы, влияющие на иммунный ответ при АБП

Некоторыми исследователями на примере животных моделей, а впоследствии и на конкретном клиническом материале было продемонстрировано, что ковалентно связанные продукты метаболизма алкоголя с белками (необелки) ведут к изменению функции белков тубулин- и лизинзависимых ферментных систем (вторично моди-

фицированные белки). В дополнение к нарушенному таким образом внутриклеточному метаболизму, необелки формируют нарушение иммунного ответа, сами выступая в роли неоантигенов. К числу таких неоантигенов следует отнести белковые комплексы, связанные с ацетальдегидом, малондиальдегидом, 4-гидроксиенолдиальдегидом, малондиальдегид — ацетальдегид гибридом и гидроксильными этиловыми радикалами [9, 10]. Показано, что чем прочнее связь белка с молекулой метаболизма этилового алкоголя и чем выше концентрация этих соединений в печени, тем более значительно модифицируется иммунный ответ организма. Ацетальдегид — первый и основной метаболит этанола, формирующий белокассоциированные комплексы, основное место присоединения — лизинные сайты. Уровень модифицированных таким образом белков зависит от концентрации ацетальдегида, ее продолжительности в конкретном временном промежутке, а также от уровня модифицируемого протеина. Альдегидные продукты перекисного окисления — малоновый диальдегид и 4-гидроксиенолдиальдегид — реагируют в основном с сульфгидрильными группами белковых молекул. Данные соединения, как было показано, могут вызывать образование аутоантител и стимулировать Т-клеточное звено иммунного ответа [10].

Варианты иммунного ответа при АБП

Ответ на метаболиты этанола

Поскольку большинство метаболитов этанола формируется непосредственно в печени, многие исследователи связывают с ними специфичность повреждения печени при АБП. Это фактически первый этап патофизиологического каскада при АБП, реализуется он вследствие формирования аутоантител и модификации Т-клеточного звена иммунного ответа. Эта стадия модифицированного иммунного ответа характеризуется быстрым поглощением образующихся продуктов клетками ретикулоэндотелиальной системы, иначе говоря, эту фазу иммунного ответа у пациентов с АБП еще можно назвать «компенсированной». На этой стадии уже могут определяться комплексы метаболитов этанола с белком в невысокой концентрации, однако практически никогда не определяются комплексы, ассоциированные с малоновым диальдегидом.

Ответ на метаболиты и вторично модифицированные белки

Эта стадия иммунного ответа ассоциирована с начальными морфологическими проявлениями воспалительного компонента алкогольного поражения печени и сопряжена с обоюдным воздействием как собственно метаболита этанола, так и вторично модифицированных клеточных белков, которые, однако, еще не стали неоантигенами. Похожей для демонстрации данной модели реакции иммунной системы при АБП может быть пример гемолитической анемии, связанной с применением пенициллина, при которой первично не изменена реактивность мембраны эритроцита, однако последняя резко модифицируется в присутствии пенициллина, не образуя с ним неоантигена. Данная стадия иммунного ответа макроорганизма при АБП формируется при уже достаточно продолжительных сроках злоупотребления алкоголем (от 3 до 5 лет).

Ответ на неоантигены

Эта стадия иммунного ответа характеризует длительность злоупотребления алкоголем. В эту стадию в морфологическом отношении можно выявить все признаки алкогольного гепатита, в ткани печени и в сыворотке крови определяются неоантигены (и соответственно антитела к ним), ассоциированные с метаболитами этанола, особенно в высоких и стабильных концентрациях определяются необелки, в состав которых входит малоновый диальдегид. На этой стадии АБП часто описывают гипергаммаглобулинемию, появление аутоантител.

Хроническое злоупотребление этаноловым алкоголем ведет к повышенной продукции вторично модифицированных белков и белков-неоантигенов, приводящих в конечном итоге к гибели гепатоцита. Формирующиеся продукты погибших гепатоцитов фагоцитируются антиген-презентирующими клетками, например макрофагами (клетками Купфера), синусоидальным эндотелием и В-лимфоцитами. В результате эти клетки взаимодействуют с поверхностными молекулами главного комплекса гистосовместимости II класса, деградируя поглощенные белки в небольшие компактные пептидные структуры. В дальнейшем происходит сенситизация Т-хелперов/супрессоров и В-клеток вторично модифицированными белками и уже формирующимися неоантигенами. Чем более длительно употребление алкоголя, тем более интенсивно происходит активизация непаренхиматозных клеток и формирование вторично модифицированных белков и неоантигенов. Дальнейшее развитие патогенетических нарушений характеризуется нарушением регуляции молекул адгезии и связанной с этим повышенной секреции провоспалительных цитокинов, таких, как туморнекротизирующий фактор α , интерлейкины-1, -8. Провоспалительные цитокины, в свою очередь, сами активизируют непаренхиматозные клетки печени (клетки Купфера и клетки Ито), индуцируя тем самым интенсивный фиброз.

Аутоиммунные нарушения при алкогольной болезни печени

Обнаружение аутоантител и выявление цитотоксических реакций иммунной системы на неоантигены у пациентов с АБП с очевидностью демонстрируют снижение толерантности иммунной системы макроорганизма с развитием аутоиммунных нарушений, нередко выявляемых при алкогольной болезни печени. Основная идея, заложенная в понимании развития реакции аутоиммунитета у больных с АБП — высокая специфичность иммунного ответа на тканевые (прежде всего печеночные) «неоантигены».

Печеньспецифический протеин — белок с высокой молекулярной массой, ассоциированный с плазматическим компонентом мембраны гепатоцита. Антитела к данному белку определяются у 30—35% пациентов с хроническим алкогольным гепатитом. Частота выявления вида антител коррелирует не только с клинической активностью заболевания, но и с морфологическими проявлениями болезни, например с выраженностью перипортальных некрозов [10]. Печеночный мембранный антиген — еще один протеин, к которому достаточно часто (у 35—45% пациентов) выявляются специфические антитела. Частота их обнаружения коррелирует с морфологической прогрессией АБП. Так, например, антитела к печеночному мембранному антигену класса IgG и IgA определялись у 10% пациентов,

имевших компенсаторную жировую дистрофию, у 24% пациентов с алкогольным гепатитом и у 68% пациентов с алкогольным циррозом печени. Кроме того, у пациентов с АБП могут образовываться антитела к цитохрому р450 (CYP). Однако специфичность данного класса аутоантител при АБП вызывает сомнения, поскольку последние достаточно часто определяются при лекарственном поражении печени: описаны случаи выявления данного класса аутоантител при токсических гепатитах, ассоциированных с применением галотана, гидралазина, вольтарена, тиниликовой кислоты [11].

Морфологическая характеристика основных форм повреждения печени у лиц, злоупотребляющих этанолом

Жировая дистрофия (стеатоз) печени. Жировая инфильтрация наиболее четко выражена в зонах 2 и 3 печеночной доли, в более тяжелых случаях жировые включения локализуются диффузно. В большинстве случаев это все-таки макровезикулярный стеатоз. С клинико-морфологической точки зрения — это начальная стадия АБП. В эту стадию при окраске с использованием моноклональных антител еще не определяются «неоантигены». А при специфических исследованиях сыворотки крови или гомогенизата биоптата печени определяются только метаболиты алкоголя и вторично модифицированные белки. Из аутоантител наиболее часто возможно определение антител к печениспецифическому протеину.

Алкогольный гепатит. Гепатоциты находятся в состоянии баллонной и жировой дистрофии, развивается лимфоцитарная инфильтрация, представленная преимущественно нейтрофильными клетками. Четко выявляются тельца Маллори, которые при окраске гематоксилин-эозином формируют феномен пурпурного облака в цитоплазме гепатоцитов. В той или иной мере выраженности может встречаться перисинусоидальный фиброз. В эту стадию АБП при использовании моноклональных антител возможно выявление «неоантигенов», в состав которых входит ацетальдегид, реже выявляются комплексы, содержащие малоновый диальдегид и 4-гидроксиенолдиальдегид. Из аутоантител могут выявляться антитела к печеночному мембранному антигену и антитела к цитохрому р450 (anti-CYP 2E1).

Цирроз печени. В дебюте цирроз обычно микронодулярный. Характерно усиленное отложение железа в печени. При развитии атак алкогольного гепатита практически всегда присутствуют признаки морфологической активности. В поздних стадиях цирроз может трансформироваться в макронодулярный, в эти же сроки значительно повышается риск развития ГЦК. В эту стадию болезни определяются все типы «неоантигенов» при использовании моноклональных антител, особенно часто обнаруживаются комплексы, в состав которых входит малоновый диальдегид и 4-гидроксиенолдиальдегид. В эту же стадию АБП выявляется достаточно широкий спектр аутоантител.

Цитокиновый профиль у пациентов с АБП и перспективные фармакологические подходы к ее лечению

Цитокины — плеотропные регуляторные пептиды, которые могут продуцироваться большим числом ядерных клеток, включая и клетки печени, как паренхиматозные, так и непаренхиматозные (клетки Купфера и Ито). К популяции более или менее изученных цитокинов можно

отнести интерлейкины, фактор некроза опухоли α , интерфероны, хемокины, росттрансформирующие и колониестимулирующие факторы. Среди множества цитокинов ключевая роль в повреждении печени при АБП (как, впрочем, и при других вариантах: вирусных, токсических, иммунных) принадлежит фактору некроза опухоли α [12, 13]. В настоящее время продемонстрирована его ключевая роль в собственно печеночном повреждении и стимуляции фиброза. Продукция фактора некроза опухоли α происходит уже на очень ранних этапах воздействия патологических агентов на печень.

Следует отметить также, что анатомические взаимоотношения печени с другими органами, ее физиологическая роль, способствуют повышенной продукции этого цитокина в результате метаболизма лекарственных веществ, взаимодействия с бактериальными эндотоксинами [13]. Фактор некроза опухоли α способствует также и пролиферации гепатоцитов, причем в опытах *in vitro* показано, что пролиферация гепатоцитов под воздействием этого цитокина происходит быстрее, чем им же инициированная смерть клеток [14]. Подтверждением данного положения является резкое повышение концентрации этого цитокина и ковалентных рецепторов на фоне экспериментальной гепатэктомии [14]. Активация ковалентных рецепторов фактором некроза опухоли α ведет к активации большого числа активных пептидов, принимающих участие в реализации и формировании иммунного ответа — киназы, протеазы, каспазы. Основной субстрат индуцированной смерти фактором некроза опухоли α — митохондрии. Дегградация митохондрий под воздействием фактора некроза опухоли α происходит в результате активации прежде всего супероксидного аниона, цитохром-с-оксидазы. Вместе с тем, описано целое подсемейство ковалентных рецепторов, локализованных в большей мере на поверхности гепатоцитов, при связывании которых с фактором некроза опухоли α происходит торможение обычного провоспалительного каскада, сопровождающегося гибелью клетки [15].

В экспериментальных моделях было продемонстрировано, что, например, гепатоциты интактной печени устойчивы к апоптозу, индуцируемому фактором некроза опухоли α , в то же время уже кратковременная экспозиция клеток в присутствии этанола сопровождалась потерей этой толерантности [16]. Именно фактор некроза опухоли α рассматривается как некая основная фармакологическая цель при лечении различных клинических вариантов АБП.

Глюкокортикостероиды применяются для лечения только одной формы АБП — острого алкогольного гепатита с высоким индексом Мэддрей. Хотя и отношение к их использованию неоднозначно, необходимо упомянуть, что на основании 15 рандомизированных плацебоконтролируемых исследований была продемонстрирована определенная клиническая эффективность назначения стероидов на срок от 4 до 6 недель. При этом было показано, что назначение преднизолона (в ряде исследований использовался метилпреднизолон) в дозе 40 мг в сутки снижало общую летальность в текущую госпитализацию почти на 50%, однако отдаленные результаты (сроки наблюдения в среднем составили 2—2,5 года) практически нивели-

лировались и выживаемость в сравниваемых группах к этому сроку была практически идентичной [17].

Антицитокиновые препараты для лечения АБП (в основном для лечения острого алкогольного гепатита) еще только изучаются. Одним из таких препаратов является ремикейд (инфликсимаб), представляющий собой химерные антитела к растворимому рецептору ТНФ- α . Пока еще немногочисленные исследования продемонстрировали повышение выживаемости больных с тяжелым алкогольным гепатитом по сравнению с контрольной группой (50 и 24% соответственно). Похожие результаты были получены и при использовании пентоксифиллина (трентал), ингибирующего синтез ТНФ- α при тяжелом алкогольном гепатите — выживаемость в группе лечения составила 47% по сравнению с 26% в контроле [17].

Тиреостатические препараты — пропилтиоурацил и метимазол — также исследовались у пациентов с АБП, в основном на стадии сформированного цирроза. Теоретическое обоснование их применения было обусловлено их влиянием на значительное понижение потребности в кислороде и торможении катаболических процессов. Полученные данные использования тиреостатиков в обозначенной популяции лиц свидетельствовали об улучшении биохимических показателей и отдаленного прогноза (средний срок наблюдения составил 3 года), однако авторами исследования подчеркивается, что данный результат отмечен только в группе пациентов с полной абстиненцией [17].

Урсодезоксихолевая кислота (урсофальк, урсосан, урсо-100), согласно данным многих клинических исследований с высоким уровнем их доказательности, способствует быстрой и эффективной нормализации биохимических показателей у больных с различными вариантами АБП, особенно в тех случаях, где присутствовал холестатический синдром [17].

Список литературы

1. Nephew T.M., Williams G.D., Stinson F.S. et al. Apparent per Capita Alcohol Consumption: National, State and Regional Trends, 2000—2004 (NIAAA Surveillance Report, N5). — Washington, D.C., CSR. Inc.

2. Kerr W.C., Fillmore K.M., Marvy P. Beverage-specific alcohol consumption and cirrhosis mortality in a group of English-speaking beer-drinking countries // *Semin. Liver Dis.* — 2003. — Vol. 95. — P. 339.

3. Drinking in the United States: Main Findings from the 1992 to 2004 National Longitudinal Alcohol Epidemiologic Survey (NLAES) — NIH Publication, 2005. — №99. — 3519.

4. Cook R.T. Alcohol abuse, alcoholism and damage to the immune system — a review // *Alcohol Clin. Exp. Res.* — 1999. — Vol. 22. — P. 1927—1942.

5. Diaz L.T., Montero A., Gonzales-Gross M. Influence of alcohol consumption on immunological status: a review // *Europ. J. Clin. Nutr.* — 2002. — Vol. 56. — Suppl. 3. — S 50—54.

6. Messingham K.A., Faunce D.V., Kovacs E.J. Alcohol, injury and cellular immunity // *Alcohol.* — 2002. — Vol. 28. — P. 137—149.

7. Zetterman R.K., Sorrell M.F. Immunologic aspects of alcoholic liver disease // *Gastroenterology.* — 2001. — Vol. 81. — P. 616—624.

8. Glud C., Christoffersen P., Eriksen J. Influence of ethanol on development of hyperplastic nodules in alcoholic men with micronodular cirrhosis // *Gastroenterology.* — 1999. — Vol. 93. — P. 256—260.

9. Tuma D.J., Sorrell M.F. Alcoholic Liver Disease: Pathology and Pathogenesis, 2nd ed. — London: Edward Arnold, 1999. — P. 89—99.

10. Sorrell M.F., Tuma D.J. Hypothesis: alcoholic liver injury and the covalent binding of acetaldehyde // *Alcohol Clin. Exp. Res.* — 1998. — Vol. 9. — P. 306—310.

11. Israel Y., Orrego H., Niemela J. Immune responses to alcohol metabolites: pathogenic and diagnostic implications // *Semin. Liver Dis.* — 1998. — Vol. 8. — P. 81—90.

12. Tracey K.J., Cerami A. Tumor necrosis factor, other cytokines and disease // *Ann. Rev. Cell Biol.* — 1998. — Vol. 9. — P. 317—343.

13. McClain C.J., Hill D.B. Cytokines and alcoholic liver disease // *Semin. Liver Dis.* — 1998. — Vol. 13. — P. 170—182.

14. Trautwein C., Rakemann T., Niehof M. Acute-phase response factor, increased binding and target gene transcription during liver regeneration // *Gastroenterology.* — 1999. — Vol. 110. — P. 1854—1862.

15. Yin M., Wheeler M.D., Kono H. Essential role of tumor necrosis factor alpha in alcohol induced liver injury // *Gastroenterology.* — 2000. — Vol. 117. — P. 942—952.

16. Herbert T., Diehl A.M. Cytokines in Alcoholic and Nonalcoholic Steatohepatitis // *New Eng. J. Med.* — 2000. — Vol. 343. — P. 1467—1476.

17. Feldman M., Friedmann L.S., Shleisenger M.Y. Gastrointestinal and Liver Disease (Pathophysiology, Diagnosis, Management). — Saunders, Philadelphia, 7th Edition, 2002.

NIKITIN I.G.

In this paper presented the modern immune mechanisms of development on alcoholic liver disease. However, there is attention concentrated on clinical and morphological variants for alcoholic liver disease and presented ones modern therapy.