

Изменение профиля воспалительных и противовоспалительных цитокинов при развитии алкогольной болезни печени*

ПАНЧЕНКО Л.Ф.

д.м.н., академик РАМН, руководитель лаборатории биохимии ФГУ ННЦ наркологии Росздрава, Москва
119002, Москва, М.Могилицевский пер., 3; тел.: (499) 241-7068

ПИРОЖКОВ С.В.

д.м.н., в.н.с. лаборатории биохимии ФГУ ННЦ наркологии Росздрава, Москва

НАУМОВА Т.А.

к.б.н., в.н.с. лаборатории биохимии ФГУ ННЦ наркологии Росздрава, Москва

ТЕРЕБИЛИНА Н.Н.

к.м.н., в.н.с. лаборатории биохимии ФГУ ННЦ наркологии Росздрава, Москва

БАРОНЕЦ В.Ю.

с.н.с. лаборатории биохимии ФГУ ННЦ наркологии Росздрава, Москва

ФЕДОРОВ И.Г.

ассистент кафедры госпитальной терапии №2 лечебного факультета ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, Москва

ТОТОЛЯН Г.Г.

аспирант кафедры госпитальной терапии №2 лечебного факультета ГОУ ВПО РГМУ Росздрава, Москва

Исследовали роль иммунопатологических механизмов в иницировании и прогрессировании алкогольной болезни печени (АБП). У 73 больных АБП, в том числе 22 больных алкогольным гепатитом (АГ) и 51 больного алкогольным циррозом печени (АЦП) проводили определение сыровоточного уровня эндотоксина, про- и противовоспалительных цитокинов, а также иммуноклеточного статуса, в сравнении с аналогичными показателями контрольной группы (39 чел.). У больных АЗП обнаружен повышенный уровень эндотоксина, который, активируя распознающие рецепторы, локализованные на клетках врожденной иммунной системы, широко представленных в печени, инициирует сдвиг цитокинового профиля в сторону провоспалительных цитокинов. Стимулируемые провоспалительными цитокинами внутриклеточные сигнальные пути вызывают избыточный синтез дополнительных воспалительных медиаторов, вазоактивных веществ, в том числе оксида азота (NO), активных форм кислорода и NO, приводящих к перерождению клеток Ито (или stellatных клеток) в фибробластоподобные клетки, синтезирующие аномальные белки экстраклеточного матрикса, что индуцирует процесс фиброгенеза. Прогрессирование патологии печени сопровождается углублением дефицита клеток адаптивного звена иммунитета, особенно Т-регуляторной субпопуляции CD4+ лимфоцитов, о чем свидетельствует резкое снижение в Т-лимфоцитах активности экто-5'-нуклеотидазы, служащей одним из маркеров данной клеточной популяции. Истощение регуляторных клеток, отвечающих как за ограничение избыточных воспалительных реакций, так и за блокирование аутоагрессивных клонов клеток, повышает вероятность включения аутоиммунных механизмов повреждения печени. Обсуждается также роль функциональных сдвигов ИЛ-4 и ТФР-1β, переключающихся с преимущественно противовоспалительной и регуляторной роли у больных АГ на провоспалительную, профиброгенную и проаутоиммунную роли у больных АЦП. Ключевые слова: алкогольная болезнь печени, цитокины, эндотоксин, иммунный статус

Введение

Алкогольная болезнь печени развивается, по разным оценкам, у 10—35% больных алкоголизмом [16, 26]. Она начинается с появления алкогольного стеатоза, который со временем переходит в гепатит, сопровождающийся некрозом и апоптозом гепатоцитов, и постепенно прогрессирующим фиброзом печени. У некоторых больных алкоголизмом фиброз печени переходит в цирроз. Иницирующая роль липодистрофии гепатоцитов в патогенезе АБП дала основания говорить о «липотоксическом» эффекте избыточного накопления липидов. Однако каким образом стеатоз гепатоцитов запускает воспалительный процесс, остается неясным. Предполагается, что существенную роль в этом может играть активация макрофагов.

Дальнейшей стадией развития АБП является алкогольный стеатогепатит. На этом этапе существенное значение имеет повышенная генерация медиаторов воспаления, таких, как цитокины, активные формы кислорода (АФК), активные формы азота (производные NO) и хемокины. Один из наиболее важных механизмов увеличения выброса воспалительных медиаторов при употреблении алкоголя заключается в активации клеток Купфера [16]. Показано, что элиминация купфферовских клеток предотвращает развитие гепатостеатоза и гепатита у крыс в экспериментах с длительным интрагастральным введением растворов этанола [43].

Купфферовские клетки имеют ключевое значение в опосредовании повреждающего действия этанола на печеночную паренхиму, частично благодаря своей роли в нейтрализации эндотоксинов, поступающих из

* Работа поддержана грантом РГНФ 07-06-00467а

кишечника. В исследованиях неоднократно была показана повышенная проницаемость кишечника для эндотоксина при хроническом злоупотреблении алкоголем [33], что проявлялось увеличением концентрации эндотоксинов в крови как у больных алкоголизмом, так и у экспериментальных животных при употреблении алкоголя [41]. Кроме повышенной проницаемости кишечника у больных алкоголизмом обнаружено увеличение в крови концентрации эндотоксин-связывающих факторов — липополисахаридсвязывающего белка и sCD14, которые обеспечивают взаимодействие эндотоксина с клетками-мишенями и их активацию [38].

Высокие уровни эндотоксина в крови воротной вены создают условия для активации купферовских клеток. Активированные клетки Купфера выделяют множество различных медиаторов: фактор некроза опухоли (ФНО α), интерлейкины (ИЛ), простагландины, АФК и т.д. [35]. ФНО α и ИЛ-1 сами обладают прямым цитотоксическим действием и, кроме того, стимулируют миграцию и активацию нейтрофилов, выделяющих протеолитические ферменты и АФК в инфильтрованные ими ткани в ходе дегрануляции. Значение эндотоксина и ФНО α в повреждении печени под действием алкоголя подчеркивается тем фактом, что введение антибиотиков в эксперименте одновременно и уменьшает концентрацию в крови ФНО α , и ограничивает объем патологических изменений печеночной паренхимы [43].

Длительное злоупотребление алкоголем вызывает разрастание соединительной ткани — *фиброз печени*. Алкогольный фиброз печени — поворотная точка в развитии АБП, так как на следующем этапе — *цирроз печени* — изменения ткани приобретают необратимый характер. Выделяют две стадии развития фиброза печени. На первой стадии изменяется состав межклеточного матрикса с заменой нефибриллярного коллагена более плотными видами коллагена с поперечными связями между молекулами. На второй стадии фибриллярный коллаген с поперечными сшивками откладывается под слоем эндотелиальных клеток; в пространстве Диссе накапливаются коллагенпродуцирующие миофибробласты, в которые трансформируются липоциты Ито [27]. Согласно имеющимся взглядам, активация перисинусоидальных липоцитов (клеток Ито), которая предшествует усиленной выработке ими фибриллярного коллагена, обусловлена стеатозом гепатоцитов, а также активацией воспалительных клеток, инфильтрирующих ткань печени. АФК и цитокины (ФНО α , α -интерферон, ИЛ-2), выделяемые в избытке на ранних стадиях АБП из купферовских клеток и, возможно, самих гепатоцитов, являются мощными активаторами перисинусоидальных липоцитов [21].

Развитию патологии печени, обусловленной приемом алкоголя, могут способствовать также изменения в различных популяциях Т-лимфоцитов как в самой печени, так и на периферии. Т-лимфоциты, изолированные из печени крыс, которые длительно потребляли этанол, вызывают повреждение печени после трансплантации их в организм интактных крыс [5]. Т-лимфоциты, изолированные из крови больных алкоголизмом, выделяют больше ФНО- α и γ -интерферона после стимуляции и экспрессируют больше маркерных молекул активации и памяти — CD45RO, CD57, CD11b — по сравнению с Т-лимфоцитами здоровых лиц [16]. Имеется положительная корреляция между накоплением CD8+ Т-лимфоцитов в печени больных с АБП, количеством узлов-регенератов, выраженностью внутридолькового воспаления и фиброза печени [36]. Предполагают, что изменения микроокружения в ткани печени при злоупотреблении алкоголем приводят к нарушению сигнальных механизмов, ответственных за апоптоз CD8+ Т-лимфоцитов, что способствует повышению их выживаемости и гепатотоксического потенциала вследствие выделения провоспалительных и фиброзогенных медиаторов, а также усиливает способность Т-киллеров активировать купферовские клетки. В патогенезе АБП может иметь значение и нарушение баланса между иммунными реакциями Th1- и Th2-типов.

Целью настоящей работы было исследовать характер изменений цитокинового профиля в организме при эволюции АБП от алкогольного гепатита к циррозу печени.

Объект и методы исследования

Исследования были проведены на 73 больных алкоголизмом, проходивших лечение в отделении гастроэнтерологии 12 ГКБ г.Москвы. Из них у 22 больных был диагностирован алкогольный гепатит, а у 51 — алкогольный цирроз печени. Диагноз *алкогольная болезнь печени (алкогольный гепатит, алкогольный цирроз печени)* установлен на основании клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования.

Образцы венозной крови больных получали с 5% ЭДТА в качестве антикоагулянта (соотношение 1:10). Цельную кровь использовали для подсчета общего количества лейкоцитов и приготовления мазков крови с последующим окрашиванием по Романовскому для подсчета формулы крови и для гистохимических окрашиваний. Из оставшейся цельной крови получали суспензию лейкоцитов путем 20—40-минутного отстаивания крови в пробирках и последующего центрифугирования супернатанта при 700 g в течение 15 мин. Образовавшуюся бляшку лейкоцитов трижды промывали раствором Хенкса и использовали для им-

муногистохимического окрашивания на иммунофенотипические маркеры. Супернатант центрифугировали при 1500 g 15 мин для получения плазмы.

Количество лейкоцитов в 1 мкл крови подсчитывали с помощью счетчика форменных элементов крови «Пикоскель». Полиморфноядерные лейкоциты (нейтрофилы, эозинофилы и базофилы), моноциты, суммарные лимфоциты, а также соотношение больших и малых гранулярных лимфоцитов (отражающее соотношение NK костномозгового и тимусного происхождения или NK/NKT) подсчитывали при микроскопировании мазков крови, окрашенных по Романовскому.

Имунофенотические популяции лимфоцитов: CD3 (суммарные Т-лимфоциты), CD19 (В-лимфоциты), CD4 (Т-хелперы), CD8 (цитотоксические Т-лимфоциты), CD16 (NK-клетки), а также маркеры активированных моноцитов (HLA-DR) подсчитывали при микроскопировании мазков крови, окрашенных иммуногистохимически [3] с использованием моноклональных антител к перечисленным дифференцировочным антигенам и «вторичных» антител к иммуноглобулинам мыши, меченных пероксидазой хрена. Моноклональные антитела получены в Научном центре иммунологии РАМН.

По разнице между количеством суммарных Т-лимфоцитов (CD3) и Т-лимфоцитов с метками CD4, CD8 и NKT определяли так называемые DN- (double negative) -лимфоциты или проапоптотические Т-лимфоциты, являющиеся, по данным литературы, носителями Fas-лиганда [7, 44]. Fas-лиганд определяет чувствительность клеток к Fas-рецепторному или CD95-апоптозу.

В Т- и В-лимфоцитах периферической крови определяли также гистохимическим методом [39] активность 5'-нуклеотидазы (5'-НТ), а в фагоцитах активность НАДФН- диафоразного маркера NO-синтазы [40], которые выражали принятым в гистохимии показателем цитохимического индекса.

Уровень эндотоксина определяли в сыворотке крови с использованием хромогенного LAL-теста фирмы SAMBREX (США).

Содержание цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-12+р40, трансформирующий фактор роста β 1 — ТФР-1 β), определяли с использованием коммерческих ИФА наборов: ИЛ-1 β и ИЛ-4 фирмы «Протеиновый Контур», Санкт-Петербург; ИЛ-12 — фирмы Biosource, Бельгия; ТФР-1 β — фирмы Bender Med System, Австрия.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета программ Microsoft Excel: описательная статистика, корреляционный анализ, двухвыборочный t-тест для выборок с различными дисперсиями.

Результаты и обсуждение

Содержание эндотоксина в плазме крови больных АГ и АЦП представлено на рисунке. В среднем оно достигало существенных величин — соответственно $4,82 \pm 1,25$ и $5,23 \pm 1,23$ EU/мл, несмотря на то, что клинические проявления инфекции отсутствовали. Достоверные различия между группами АГ и АЦП по содержанию эндотоксина в крови не обнаружены. Данные в табл. 1 характеризуют иммуноклеточный статус больных АГ и АЦП по сравнению со здоровыми людьми. У больных АГ не изменяется, а у больных АЦП существенно снижается содержание в крови суммарной фракции Т-лимфоцитов (CD3+) — на 30%. При этом в группе обследованных с АЦП на 30—40% уменьшается объем популяции Т-хелперов (CD4) и цитотоксических (CD8) Т-лимфоцитов, что сопровождается повышением числа DN-Т-лимфоцитов, считающихся носителями проапоптотического Fas-лиганда. Одновременно с этим снижается цитохимический индекс 5'-нуклеотидазы Т-лимфоцитов, рассматриваемой в современной литературе [2] в качестве маркера особой субпопуляции CD4+ лимфоцитов — Т-регуляторных клеток: на 21% у больных АГ и в 2,4 раза у больных АЦП, а также количество NKT-клеток — соответственно в 3,2 и 4,8 раза. Угнетение специфических иммунных реакций по мере прогрессирования АБП подтверждается последовательным сокращением количества В-лимфоцитов в ряду здоровые люди — больные АГ — больные АЦП. В этом же ряду уменьшается и содержание в крови некоторых клеток естественного иммунитета: NK-лимфоцитов — соответственно в 2,1 и 3,03 раза. NK-лимфоцитам, так же как и NKT, принадлежит важная антифиброзная роль вследствие элиминации активированных клеток Ито [13]. Содержание нейтрофилов возрастает в абсолютных величинах (тыс. клеток в 1 мкл) у больных с АГ и АЦП, а количество моноцитов достоверно возрастает у больных АГ, но затем уменьшается до уровня здоровых лиц при развитии АЦП (табл. 2). В группе с АЦП обращает на себя внимание резкое, в 40 раз, возрастание доли нейтрофилов с токсогенной зернистостью, которая может свидетельствовать об угнетении функциональной активности костного мозга и дегенеративном характере лейкопоэза у таких больных.

Таким образом, анализ иммуноклеточных сдвигов у больных АБП свидетельствует о нарастании по мере прогрессирования патологии печени дисфункции адаптивного звена иммунитета на фоне высокой сохранности и даже экспансии клеток неспецифической воспалительной реакции. Особую значимость при этом приобретает дефицит Т-лимфоцитов с высокой активностью 5'-нуклеотидазы, которым принадлежит исключительная роль в подавлении избыточной вос-

Таблица 1

Иммунноклеточный статус адаптивного звена иммунитета у больных АГ и АЦП по сравнению с группой здоровых лиц (М±m)

Показатель	Единица измерения	Контроль (здоровые лица)	Больные АГ	Больные АЦП
Количество обследованных		39	22	51
Лейкоциты	Тыс./мкл	6,64±0,26	8,00±0,47 *	6,88±0,50 #
Лимфоциты суммарные	%	34,16±3,04	24,68±1,68 **	24,79±1,80 **
	Тыс./мкл	2,26±0,21	2,00±0,18	1,43±0,08 *** / ##
Т-лимфоциты CD3	%	72,3±3,07	75,96±1,96	77,09±1,08
	Тыс./мкл	1,62±0,17	1,49±0,16	1,13±0,07 ** / #
Т-хелперы CD4	%	44,10±3,66	43,29±2,58	45,86±1,28
	Тыс./мкл	0,99±0,15	0,81±0,09	0,60±0,04 ** / ##
Т-цитотоксические CD8	%	28,69±1,60	29,87±1,51	37,00±1,32
	Тыс./мкл	0,64±0,07	0,57±0,07	0,43±0,03 ** / #
ИРИ	Тх/Тс	1,74±0,23	1,53±0,12	1,58±0,08
DN-клетки	%	-0,28±0,23	2,83±2,11 **	0,46±0,94
	Тыс./мкл	-0,03±0,04	0,08±0,05 *	0,033±0,02
5'-нуклеотидаза Т-лимфоцитов	Цитохимический индекс	0,47±0,02	0,37±0,02 ***	0,20±0,04 *** / ##
NKT- клетки	%	12,82±0,11	3,93±0,50 ***	5,41±0,79 ***
	Тыс. /мкл	0,26±0,02	0,08±0,01 ***	0,064±0,01 ***
В-лимфоциты CD19	%	10,8±1,77	8,30±0,83	6,82±0,51 *
	Тыс. /мкл	0,26±0,04	0,16±0,02 *	0,096±0,01 *** / ###
5'-нуклеотидаза В-лимфоцитов	Цитохимический индекс	0,53±0,02	0,59±0,16	0,43±0,08

Примечание. * — достоверность различий по отношению к группе здоровых лиц $p<0,05$; ** — $p<0,01$; *** — $p<0,001$; # — достоверность различий показателя между больными алкогольным гепатитом (АГ) и больными алкогольным циррозом печени (АЦП) $p<0,05$; ## — $p<0,01$; ### — $p<0,001$; ИРИ — иммунорегуляторный индекс

Таблица 2

Иммунноклеточный статус врожденного звена иммунитета у больных АГ и АЦП по сравнению с группой здоровых лиц (М±m)

Показатель	Единица измерения	Контроль (здоровые лица)	Больные АГ	Больные АЦП
Количество обследованных		39	22	51
NK-клетки CD16	%	14,51±1,16	6,89±0,60 ***	6,70±0,68 ***
	Тыс./мкл	0,30±0,02	0,14±0,02 ***	0,10±0,01 ***
Нейтрофильные гранулоциты	%	56,43±4,01	62,76±1,94	65,06±1,95
	Тыс./м+	3,78±0,23	5,07±0,33 *	5,01±0,45 #
Индекс незрелости нейтрофилов		0,09±0,02	0,15±0,04	0,12±0,012
Токсогенные нейтрофилы	%	0,83±0,46	7,76±2,91 *	33,8±5,68 *** / ###
Эозинофилы	%	2,35±0,63	2,27±0,32	2,01±0,25
	Тыс./мкл	0,16±0,05	0,19±0,04	0,12±0,01
Базофилы	%	0,87±0,58	1,40±0,07	1,52±0,11
	Тыс./мкл	0,06±0,05	0,13±0,07	0,13±0,007
Моноциты	%	7,04±0,65	10,31±0,63 ***	7,79±0,73 #
	Тыс./мкл	0,47±0,06	0,84±0,08 ***	0,50±0,04 ###
HLA-DR	%	3,21±1,74	3,54±0,43	3,12±1,29
	Тыс./мкл	0,21±0,09	0,28±0,03 *	0,21±0,09 #
НАДФН-диафораза	Цитохим. индекс	0,20±0,03	0,20±0,03	0,28±0,03

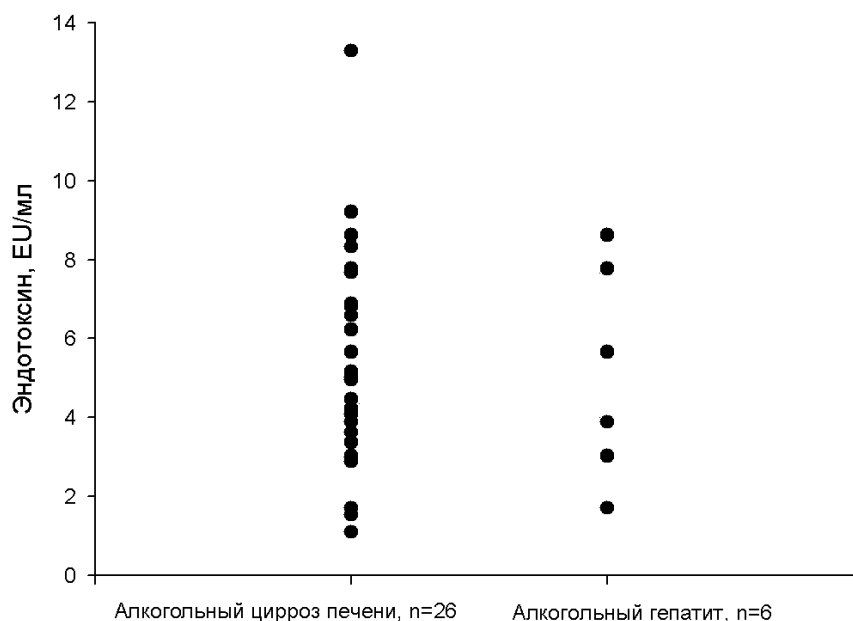
Примечание. * — достоверность различий по отношению к группе здоровых лиц $p<0,05$; ** — $p<0,01$; *** — $p<0,001$; # — достоверность различий показателя между больными алкогольным гепатитом (АГ) и больными алкогольным циррозом печени (АЦП) $p<0,05$; ## — $p<0,01$; ### — $p<0,001$

палительной реакции, ведущей к тяжелым повреждениям тканей, а также в предупреждении аутоиммунных реакций путем элиминации аутоагрессивных клонов иммунных клеток. Экто-форма 5'-нуклеотидазы, известная также под названием *поверхностного маркера CD73*, вместе с маркером CD39 участвует в дефосфорилировании экстраклеточных аденозин-нуклеотидов — АТФ и АМФ, в большом количестве освобождающихся в очагах воспаления из разрушающихся клеток и дегранулирующих нейтрофилов, продуцируя противовоспалительный медиатор — аденозин [1, 4]. Последний через A2a- и A3-аденозиновые рецепторы подавляет пролиферативные реакции соседних Т-эффекторных клеток [10, 23], блокирует гены, кодирующие синтез провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО α , ИЛ-12) [2, 21, 28], и, напротив, промотирует гены противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10) [10], подавляет продукцию АФК и хемотаксис нейтрофилов [17]. При дефиците CD39 и CD73 АТФ через P2-пуринергические рецепторы активирует нейтрофилы, моноциты и макрофаги, стимулируя в них продукцию и освобождение провоспалительных цитокинов [20, 34].

Цитокины, участвующие в регуляции иммунных реакций, по направленности их эффекта разделяют на провоспалительные и противовоспалительные. К первой группе относят цитокины ФНО α , ИЛ-1 β , γ -интерферон, ИЛ-6, ИЛ-12; ко второй — ТФР-1 β , ИЛ-4, ИЛ-10 [8, 15]. В табл. 3 представлены средние значения содержания про- и противовоспалительных цитокинов в плазме крови больных с различной степенью поражения печени. Концентрация в крови

провоспалительного цитокина ИЛ-1 β последовательно возрастает по мере усугубления алкогольного поражения печени сначала на 50% у больных АГ, затем в 2,9 раза у больных АЦП. ИЛ-12 существенно возрастает в 2,3 раза только в группе больных с АЦП по сравнению со здоровыми лицами. Аналогично провоспалительным цитокинам в крови больных АЦП значительно увеличивается содержание и противовоспалительных цитокинов: ТФР-1 β — в 1,7 раза и ИЛ-4 — в 4,2 раза. Концентрация этих цитокинов в крови у больных АГ не отличается от контрольных значений.

Из полученных результатов следует, что интенсивность воспалительного процесса при АЦП не уменьшается, а, наоборот, возрастает по сравнению со стадией АГ, при этом профиль секретируемых цитокинов соответствует активации иммунных реакций как Th1 типа (ИЛ-1 β , ИЛ-12), так и Th2 типа (ТФР-1 β , ИЛ-4). Однако, учитывая дефицит Т-лимфоцитов в крови больных АЦП, нельзя исключить того, что источником цитокинов могут быть и другие популяции воспалительных клеток, например моноциты крови или локальная фракция активированных макрофагов в ткани печени. В связи с этим возникает вопрос о двойственной природе некоторых цитокинов, которые в одних условиях подавляют иммунные реакции, а в других — оказывают провоспалительное действие. Это свойство характерно для таких цитокинов, как ТФР-1 β и ИЛ-4. ТФР-1 β может оказывать системный противовоспалительный эффект и локально — провоспалительное действие [29]. Среди популяций Т-хелперов ТФР-1 β синте-



Содержание эндотоксина в сыворотке крови больных с алкогольным поражением печени

Таблица 3

Содержание цитокинов у больных алкоголизмом с различной степенью развития АБП

	ИЛ-1 β (пкг/мл)	ИЛ-4 (пкг/мл)	ИЛ-12+p40 (пкг/мл)	ТФР- β 1 (нг/мл)
Контроль (здоровые лица), n=10	22,5 $\pm$ 5,4	8,5 $\pm$ 1,5	74,9 $\pm$ 8,3	36,7 $\pm$ 6,5
Алкогольный гепатит, n=12	33,8 $\pm$ 6,8	9,3 $\pm$ 3,0	67,4 $\pm$ 13,5	46,5 $\pm$ 5,8
Алкогольный цирроз печени, n=25	64,2 $\pm$ 10,9 ** °	36,1 $\pm$ 7,3 *** °°	172,8 $\pm$ 19,7 ** °°	63,4 $\pm$ 7,8 *
Примечание. * — достоверность различий по отношению к группе здоровых лиц $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$; ° — достоверность различий показателя между больными алкогольным гепатитом (АГ) и больными алкогольным циррозом печени (АЦП) $p < 0,05$; °° — $p < 0,01$; °°° — $p < 0,001$				

Таблица 4

Корреляция между содержанием в плазме крови эндотоксина, цитокинов и клетками иммунной защиты у больных АГ

Показатель	Число степеней свободы df	Показатель	Коэффициент корреляции
Эндотоксин	6	Количество Т-хелперов (CD4+) Токсогенная зернистость нейтрофилов Количество эозинофилов	$r = 0,78$ * $r = -0,79$ * $r = -0,73$ *
ИЛ-1 β	6	Индекс незрелости нейтрофилов ИЛ-4 ТФР β	$r = 0,74$ * $r = 0,78$ * $r = 0,81$ *
ИЛ-12+p40	15	Количество эозинофилов NO-синтаза фагоцитов	$r = 0,65$ ** $r = 0,58$ **
ИЛ-4	6	ИЛ-1 β ТФР β	$r = -0,79$ * $r = -0,84$ *
ТФР-1 β	13	ИЛ-1 β ИЛ-4	$r = 0,81$ * $r = -0,84$ *
Примечание. r — коэффициент корреляции по Спирмену; * — достоверность корреляции $\leq 0,05$			

Таблица 5

Корреляция между содержанием в плазме крови эндотоксина, цитокинов и клеток иммунной защиты у больных АЦП

Показатель	Число степеней свободы	Показатель	Коэффициент корреляции
Эндотоксин	19	Количество лейкоцитов Индекс незрелости нейтрофилов Токсогенная зернистость нейтрофилов	$r = -0,50$ * $r = 0,52$ * $r = 0,48$ *
ИЛ-1 β	19	Токсогенная зернистость нейтрофилов Количество базофилов Активность 5'-нуклеотидазы лимфоцитов ИЛ-4	$r = 0,51$ * $r = 0,52$ * $r = 0,57$ ** $r = 0,43$ *
ИЛ-12+p40	39	Общее количество лейкоцитов Количество нейтрофилов Количество базофилов Количество моноцитов NOS фагоцитов Активность 5'-нуклеотидазы лимфоцитов ИЛ-4	$r = -0,34$ * $r = -0,45$ ** $r = 0,59$ *** $r = 0,35$ * $r = 0,33$ * $r = 0,43$ ** $r = 0,58$ **
ИЛ-4	19	Количество NKT-клеток Количество базофилов Активность 5'-нуклеотидазы лимфоцитов ИЛ-1 β ИЛ-12p40	$r = 0,44$ * $r = 0,56$ ** $r = 0,43$ * $r = 0,43$ * $r = 0,58$ **
ТФР-1 β	49	Количество CD4+ Количество DN-T-лимфоцитов Количество NKT-клеток Количество моноцитов с маркером HLA-DR	$r = -0,29$ * $r = 0,36$ ** $r = -0,42$ ** $r = 0,40$ **
Примечание. r — коэффициент корреляции по Спирмену; * — достоверность корреляции $\leq 0,05$; ** — достоверность корреляции $\leq 0,01$; *** — достоверность корреляции $\leq 0,001$			

зируют CD4+регуляторные (Treg) лимфоциты [25], которым принадлежит особая роль в предупреждении аутоиммунных осложнений путем элиминации аутоагрессивных клонов иммуноцитов и в контррегуляции избыточного воспаления [32, 34]. ТФР-1 β секретируется и клетками врожденного иммунитета: макрофагами, тучными клетками, а также неиммунными клетками. В частности, в нормальной печени ТФР-1 β , продуцируемый клетками Купффера, блокирует активацию клеток Ито. Однако в условиях эндотоксинемии клетки Купффера переключаются на синтез провоспалительных цитокинов, что приводит к активации клеток Ито, которые сами начинают вырабатывать ТФР-1 β , приобретающий уже профиброгенную функцию [22]. ТФР-1 β , освобождаемый тучными клетками, в сочетании с ИЛ-6 инициирует превращение наивных Тх0-клеток в особую субпопуляцию Тх17-клеток, опосредующих сильную воспалительную реакцию с аутоиммунным компонентом [6] а в сочетании с ИЛ-2 индуцирует дифференцировку Т-регуляторной субпопуляции [37].

ИЛ-4 считается противовоспалительным цитокином, так как препятствует активации транскрипции γ -интерферон- и эндотоксинзависимых генов [15]. С другой стороны, ИЛ-4 является основным медиатором аллергического воспаления анафилактического типа. Этот цитокин играет важную роль в развитии гепатита, инициированного введением Соп А, вследствие усиления экспрессии эотаксина и ИЛ-5, привлекающих эозинофилы и нейтрофилы в очаг воспаления [19]. Соп А-индуцированный гепатит у мышей — это признанная модель Т-лимфоцит-опосредованного гепатита, который по своим проявлениям аналогичен аутоиммунному гепатиту у людей. В патогенезе АБП аутоиммунные механизмы также могут иметь существенное значение. Установлено, что аддукты ацетальдегида к белкам печеночной ткани обладают иммуногенностью и стимулируют выработку аутоантител [30]. Титр таких антител коррелирует с тяжестью повреждения ткани печени.

Корреляционный анализ иммуноклеточных сдвигов, содержания в крови эндотоксина и цитокинового профиля дает основание предполагать, что иммунофенотипические сдвиги у больных как АГ, так и АЦП инициируются эндотоксиновой агрессией, обусловленной повышением проницаемости кишечной стенки и/или дефицитом белковых и липопротеиновых молекул, элиминирующих эндотоксины [38, 41]. Вместе с тем, уровень эндотоксина у больных АГ и АЦП коррелирует с различными показателями иммуноклеточного статуса.

Как видно из табл. 4, у больных АГ концентрация в крови эндотоксина положительно коррелирует с количеством клеток адаптивного иммунитета — Т-хел-

перами (CD4+). В то же время имеется отрицательная корреляция между концентрацией эндотоксина и количеством клеток-эффекторов неспецифического иммунитета — нейтрофилов с токсогенной зернистостью и эозинофилов.

В противоположность этому в группе больных АЦП (табл. 5) содержание эндотоксина положительно коррелирует с количеством нейтрофилов с высоким индексом незрелости, свидетельствующим об ускоренном выходе из костного мозга недостаточно зрелых, функционально неполноценных клеток и нейтрофилов с токсогенной зернистостью. Между количеством клеток адаптивного иммунитета и концентрацией эндотоксина у больных АЦП корреляция отсутствует. Таким образом, реакция иммунной системы на эндотоксинемия у больных на разных стадиях АБП имеет различный характер. При АГ не происходит существенного уменьшения основных популяций Т-лимфоцитов (CD4+ и CD8+) и в иммунном ответе заметно проявляется вклад клеток адаптивного, специфического иммунитета, обеспечивающих более эффективную защиту организма и предотвращающих чрезмерную активацию клеток, ответственных за воспалительное и аллергическое повреждение тканей. Развитие АЦП связано с более глубокой депрессией адаптивного компонента иммунитета, в результате чего реакция на эндотоксин в основном определяется клетками более примитивной неспецифической защиты.

Различия в характере иммунной реакции на эндотоксин у больных АГ и АЦП подтверждает анализ корреляционных связей иммуноклеточных параметров с концентрацией в крови цитокинов (табл. 4 и 5). Провоспалительный цитокин ИЛ-1 β вырабатывается антигенпрезентирующими клетками, нейтрофилами, НК-клетками и тучными клетками. У больных АГ концентрация ИЛ-1 β положительно коррелирует с индексом незрелости нейтрофилов, что соответствует условиям «реакции острой фазы» в организме, при которой массивное выделение медиаторов острого воспаления в кровоток вызывает повышение проницаемости костного мозга и выход юных форм нейтрофилов в кровяное русло. При АЦП реализуется другая модель патогенеза, так как содержание ИЛ-1 β положительно коррелирует с токсогенной зернистостью нейтрофилов. В этом случае обострение воспалительного процесса сочетается с усилением токсической нагрузки на костный мозг и дегенеративным характером гранулоцитопоза. Заслуживает упоминания положительная корреляция уровня ИЛ-1 β у больных АЦП с количеством базофилов, которые в тканях трансформируются в тучные клетки. Тучным клеткам, известным ранее главным образом по их участию в реакциях гиперчувствительности немедленного типа, в настоящее время отводится немаловаж-

ная роль в опосредовании многих других иммунных реакций, не связанных с аллергией. Установлено, что тучные клетки могут стимулироваться, как и макрофаги, через Toll-like-рецепторы (TLR) и модулировать функции антигенпредставляющих клеток и Т-лимфоцитов [6]. Гранулы тучных клеток, кроме гистамина, содержат множество провоспалительных медиаторов (лейкотриены, простагландины, протеазы), а также цитокинов — ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-12, ИЛ-4, ТФР-1 β . На многих экспериментальных моделях аутоиммунных заболеваний продемонстрирована тесная корреляция между количеством тучных клеток и чувствительностью животных к аутоиммунной патологии [31, 37], что обусловлено способностью этих клеток резко повышать степень воспалительного потенциала тканей за счет быстрого выброса большого количества воспалительных медиаторов. Высокий воспалительный потенциал служит толчком к развитию аутоиммунных процессов, усиливая реакции в норме низкоаффинных аутоагрессивных клонов клеток, сохраняющихся в организме после перинатальной отрицательной селекции в тимусе аутореактивных клеток высокой аффинности. С учетом сказанного можно предположить, что обнаруженная у больных АЦП прямая корреляция базофилов с уровнем провоспалительных цитокинов свидетельствует о высокой вероятности включенности в патогенетические механизмы АЦП аллергических и аутоиммунных компонентов.

Второй провоспалительный цитокин — ИЛ-12 — рассматривается обычно как критический фактор пролиферации и дифференциации Т-хелперов 1 типа [42], хотя известно также, что ИЛ-12 является ростовым фактором клеток миелоидного происхождения, действующим аналогично гранулоцитарно-моноцитарному колониестимулирующему фактору [18], а также способствует развитию Т-регуляторных клеток [45]. Корреляций между ИЛ-12 и Т-хелперами не выявлено ни в одной из групп больных с АБП, зато обнаружена достоверная корреляция с клетками неспецифического иммунитета как у больных с АГ, так и с АЦП: с количеством эозинофилов и моноцитов, с активностью гистохимического маркера NO-синтазы фагоцитов, служащей промоутором генов провоспалительных цитокинов [14]. При АЦП к этому присоединяется положительная корреляция с количеством базофилов и с маркером Т-регуляторных клеток — экто-5'-нуклеотидазой. Обе последние корреляции можно расценивать как еще одно подтверждение участия в патофизиологии АЦП аутоиммунных механизмов, в которых тучные клетки играют роль триггера, а Т-регуляторные клетки — роль контррегуляторного механизма.

ИЛ-4 у больных АГ не коррелирует ни с одним из иммуноклеточных параметров, что согласуется с отсутствием изменений уровня этого цитокина на данной стадии АБП. У больных АЦП ИЛ-4 положительно коррелирует с количеством базофилов, НКТ и 5'-нуклеотидазой Т-лимфоцитов, а также с уровнем ИЛ-1 β и ИЛ-12+р40. Весь этот комплекс корреляционных связей укладывается в рамки скорее проаллергенного и проаутоиммунного действия ИЛ-4, но не противовоспалительного. В качестве проаллергенного медиатора ИЛ-4 переключает синтез иммуноглобулинов на IgE-класс, что приводит к стимуляции и дегрануляции тучных клеток с освобождением большого количества цитокинов, в том числе ИЛ-1 β , ИЛ-12 и ИЛ-4, последний может индуцировать дополнительную продукцию ИЛ-12 дендритными клетками [37]. Высокий уровень воспалительных медиаторов активирует клеточные эффекторы аутоиммунитета. При таком развитии событий Т-регуляторные клетки и НКТ, обладающие супрессорными функциями, выступают в качестве противодействующего, сдерживающего фактора.

ТФР-1 β у больных АГ, несмотря на достаточно высокий уровень, не обнаруживает корреляции ни с одним из иммуноклеточных параметров, что может свидетельствовать либо о незначительном вкладе в продукцию этого цитокина иммуноцитов по сравнению с клетками другого происхождения, либо о достаточной сбалансированности синтеза ТФР-1 β различными типами иммунных клеток (моноцитами/макрофагами, Т-регуляторными клетками, НКТ-популяцией, базофилами/тучными клетками) на этой стадии АБП. У больных АЦП уровень ТФР-1 β коррелирует с количеством CD4+ и НКТ-клеток отрицательно и положительно — с количеством проапоптотических Т-клеток (DN-Т-лимфоциты), что можно расценивать как истощение профильных Т-клеточных продуцентов ТФР-1 β : Treg субпопуляции CD4+ лимфоцитов и НКТ-клеток в результате их апоптотической гибели. Вместе с тем, ТФР-1 β при АЦП обнаруживают положительную корреляцию с маркером активированных моноцитов HLA-DR, что может указывать на доминирование у больных в этом состоянии провоспалительных функций ТФР-1 β .

Таким образом, корреляционный анализ концентраций сывороточных цитокинов, эндотоксина и иммуноклеточных показателей у больных АГ и АЦП подтверждает, что инициируемые эндотоксином иммуноклеточные сдвиги опосредуются изменениями цитокинового профиля. Трансформация корреляционных связей между концентрацией в крови про- и противовоспалительных цитокинов и содержанием клеток адаптивного и нативного иммунитета позволяет

предположить, что развитие патологии печени обусловлено нарушением баланса между отдельными типами иммунцитов, а именно — преимущественным истощением клеточных субпопуляций, отвечающих за сдерживание воспаления и предупреждение аутоагрессивных реакций (Т-лимфоцитов, включая Трег-клетки и НКТ-клетки) при сохранности клеток, провоцирующих тяжелое воспалительное и аллергическое повреждение тканей. По мере развития АБП в плазме крови больных алкоголизмом нарастает содержание эндотоксина, который стимулирует выработку ИЛ-12 моноцитами и купфферовскими клетками. В свою очередь, ИЛ-12 усиливает генерацию фактора некроза опухолей- α (ФНО α) и ИЛ-1 β [11], обладающих многоплановым потенцирующим действием на воспалительный процесс, а также способных инициировать апоптоз [12]. При этом гепатоциты погибают путем не только апоптоза, но и некроза, что провоцирует воспалительную реакцию (АГ), сопровождающуюся инфильтрацией ткани печени полиморфноядерными лейкоцитами. Гибель гепатоцитов инициирует процессы регенерации и коллагенообразования, стимулируемые накоплением ТФР-1 β [9] и провоспалительных цитокинов, содержание которых в плазме крови больных алкоголизмом с АБП положительно ассоциируется с уровнем маркеров биосинтеза коллагена (PINP, PIIINP) и отрицательно — с концентрацией маркера деградации коллагена — beta-СТх [24]. Однако в исходе этого процесса при продолжающемся злоупотреблении алкоголем развивается цирроз и декомпенсированная форма печеночной недостаточности.

Список литературы

1. Airas L., Niemela J., Yegutkin G., Jalkanen S. Mechanism of action of IFN-beta in the treatment of multiple sclerosis: a special reference to CD73 and adenosine // *Ann. NY Acad. Sci.* — 2007. — Vol. 1110. — P. 641—648.
2. Alam M.S., Kurtz C.C., Rowlett R.M. et al. CD73 is expressed by human regulatory T helper cells and suppresses proinflammatory cytokine production and *Helicobacter felis*-induced gastritis in mice // *J. Infect. Dis.* — 2009. — Vol. 1299. — P. 494—504.
3. Bourne J.A. Handbook of immunoperoxidase staining methods. — 1983. — Dakopatts. — P. 37.
4. Bours M.J., Swennen E.L., Di Virgilio F. et al. Adenosine 5'-triphosphate and adenosine as endogenous signaling molecules in immunity and inflammation // *Pharmacol. Ther.* — 2006. — Vol. 112. — P. 358—404.
5. Cao Q., Batey R., Pang G., Clancy R. Altered T-lymphocyte responsiveness to polyclonal cell activators is responsible for liver cell necrosis in alcohol-fed rats // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* — 1998. — Vol. 22. — P. 723—729.
6. Christy A., Brown M.A. The multitasking mast cell: positive and negative roles in the progression of autoimmunity // *J. Immunol.* — 2007. — Vol. 179. — P. 2673—2679.
7. Chu J., Ramos P., Rosendorff A. et al. Massive up-regulation of the Fas ligand in lpr and gld mice: implications Fas regulation and the graft-versus-host disease-like wasting syndrome // *J. Exp. Med.* — 1995. — Vol. 181. — P. 393—398.

8. Conti B., Tabarean I., Andrei C., Bartfai T. Cytokines and fever // *Front. Biosci.* — 2004. — Vol. 9. — P. 1433—1449.
9. Crews F.T., Bechara R., Brown L.A. et al. Cytokines and alcohol. *Alcohol // Clin. Exp. Res.* — 2006. — Vol. 30. — P. 720—730.
10. Csoka B., Himer L., Selmezy Z. et al. Adenosine A2A receptor activation inhibits T helper 1 and T helper 2 cell development and effector function // *FASEB J.* — 2008. — Vol. 22. — P. 3491—3499.
11. Daneluk J., Szuster-Ciesielska A., Drabko J., Kander-Szarszen M. Serum cytokine level in alcohol-related liver cirrhosis // *Alcohol.* — 2001. — Vol. 23. — P. 29—34.
12. Dinarello C.A. Biologic basis for interleukin-1 in disease // *Blood.* — 1996. — Vol. 87. — P. 2095—2147.
13. Gao B., Radaeva S., Park O. Liver natural killer and natural killer T cells: immunobiology and emerging roles in liver diseases // *J. Leukoc. Biol.* — 2009. — Vol. 86. — P. 513—528.
14. Guzik T.J., Korb R., Adamek-Guzik T. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation // *J. Physiol. Pharmac.* — 2003. — Vol. 54. — P. 469—487.
15. Hamilton T.A., Ohmori Y., Tebo J. Regulation of chemokine expression by antiinflammatory cytokines // *Immunol. Res.* — 2002. — Vol. 25. — P. 229—245.
16. Hines I.N., Wheeler M.D. Recent advances in alcohol liver disease III. Role of innate immune response in alcoholic hepatitis // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* — 2004. — Vol. 287. — P. G310—G314.
17. van der Hoeven D., Wan T.C., Auchampach J.A. Activation of the A3 adenosine receptor suppresses superoxide production and chemotaxis of mouse bone marrow neutrophils // *Mol. Pharmacol.* — 2008. — Vol. 74. — P. 685—696.
18. Jacobsen S.E., Veiby O.P., Smeland E.B. Cytotoxic lymphocyte maturation factor (interleukin12) is a synergistic growth factor for hematopoietic stem cells // *J. Exp. Med.* — 1993. — Vol. 178, №2. — P. 413—418.
19. Jaruga B., Hong F., Sun R. et al. Crucial role of IL-4/STAT6 in T cell-mediated hepatitis. Up-regulating eotaxins and IL-5 and recruiting leukocytes // *J. Immunol.* — 2003. — Vol. 171. — P. 3233—3244.
20. Kalsi K., Lawson Ch., Dominguez M. et al. Regulation of ecto-5'-nucleotidase by TNF- α in human endothelial cells // *Mol. Cell. Biochem.* — 2002. — Vol. 232. — P. 113—119.
21. Khoa N.D., Montesinos M.C., Reiss A.B. et al. Inflammatory cytokines regulate function and expression of adenosine A_{2A} receptors in human monocytic THP-1 cells // *J. Immunol.* — 2001. — Vol. 167. — P. 4026—4032.
22. Kmie J.Z. Cooperation of liver cells in health and disease // *Adv. Anat. Embryol. Cell. Biol.* — 2001. — Vol. 161. — P. 1—151.
23. Kobie J.J., Shah P.R., Yang L. et al. T regulatory and primed uncommitted CD4 T cells express CD73, which suppresses effector CD4 T cells by converting 5'-adenosine monophosphate to adenosine // *J. Immunol.* — 2006. — Vol. 177. — P. 6780—6786.
24. Koivisto H., Hietala J., Niemela O. An inverse relationship between markers of fibrogenesis and collagen degradation in patients with or without alcoholic liver disease // *Am. J. Gastroenterol.* — 2007. — Vol. 102. — P. 773—779.
25. Li M.O., Flavell R.A. TGF-beta: a master of all T cell trades // *Cell.* — 2008. — Vol. 134. — P. 392—404.
26. Lieber C.S. Alcoholic liver disease: new insights in pathogenesis lead to new treatments // *J. Hepatol.* — 2000. — Vol. 32. — Suppl. — P. 113—128.
27. Lieber C.S. Alcohol and the liver: metabolism of alcohol and its role in hepatic and extrahepatic diseases // *The Mount Sinai Journal of Medicine.* — 2000. — Vol. 67. — P. 84—94.
28. Link A.A., Kino T., Worth J.A. et al. Ligand-activation of the A2a receptors inhibits IL-12 by human monocytes // *J. Immunol.* — 2000. — Vol. 164. — P. 436—442.

29. Marek A., Brodzicki J., Liberek A., Korzon M. TGF- β (transforming growth factor- β) in chronic inflammatory conditions — a new diagnostic and prognostic marker? // *Med. Sci. Monit.* — 2002. — Vol. 8. — P. RA145—51.
30. Niemela O. Distribution of ethanol-induced protein adducts in vivo: relationship to tissue injury // *Free Radic. Biol. Med.* — 2001. — Vol. 31. — P. 1533—1538.
31. Nigrovic P.A., Lee D.M. Synovial mast cells: role in acute and chronic arthritis // *Immunol. Rev.* — 2007. — Vol. 217. — P. 19—37.
32. Ohta A., Sitkovsky M. Role of G-protein-coupled adenosine receptors in down-regulation of inflammation and protection from tissue damage // *Nature.* — 2001. — Vol. 414. — P. 916—920.
33. Parlesak A., Schafer C., Schutz T., Bode J.C., Bode C. Increased intestinal permeability to macromolecules and endotoxemia in patients with chronic alcohol abuse in different stages of alcohol-induced liver disease // *Journal of Hepatology.* — 2000. — Vol. 32. — P. 742—747.
34. Reutershan J., Vollmer I., Stark S. et al. Adenosine and inflammation: CD39 and CD73 are critical mediators in LPS-induced PMN trafficking into the lungs // *FASEB J.* — 2009. — Vol. 23. — P. 473—482.
35. Roberts R.A., Ganey P.E., Ju C., Kamendulis L.M., Rusyn I., Klaunig J.E. Role of the Kupffer cell in mediating hepatic toxicity and carcinogenesis // *Toxicological Sciences.* — 2007. — Vol. 96. — P. 2—15.
36. Sakai Y., Izumi N., Marumo F., Sato C. Quantitative immunohistochemical analysis of lymphocyte subsets in alcoholic liver disease // *J. Gastroenterol. Hepatol.* — 1993. — Vol. 8. — P. 39—43.
37. Sayed B.A., Christy A., Aquirion M.R., Brown M.A. The master switch: the role of mast cells in autoimmunity and tolerance // *Annu. Rev. Immunol.* — 2008. — Vol. 26. — P. 705—739.
38. Schafer C., Parlesak A., Schutt C., Bode J.C., Bode C. Concentrations of lipopolysaccharide-binding protein, bactericidal/permeability-increasing protein, soluble CD14 and plasma lipids in relation to endotoxaemia in patients with alcoholic liver disease // *Alcohol Alcohol.* — 2002. — Vol. 37. — P. 81—86.
39. Silber R., Conklyn M., Grusky G., Zucker-Franklin D. Human lymphocytes: 5'-nucleotidase-positive and -negative // *J. Clin. Invest.* — 1975. — Vol. 56. — P. 1324—1327.
40. Svisky E., Ondraovic M., Danko J. et al. Localisation of NADPH-diaphorase-positive structures in the thymus of the rat, mouse and rabbit // *Folia Morphol. (Warsz.).* — 2003. — Vol. 62. — P. 167—170.
41. Thurman R.G. Mechanisms of hepatic toxicity II. Alcoholic liver injury involves activation of Kupffer cells by endotoxin // *Am. J. Physiol.* — 1998. — Vol. 275. — P. G605—G611.
42. Trinchieri G. Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulator functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity // *Annu. Rev. Immunol.* — 1995. — Vol. 13. — P. 251—265.
43. Wheeler M.D., Kono H., Yin M. et al. The role of Kupffer cell oxidant production in early ethanol-induced liver disease // *Free Radic. Biol. Med.* — 2001. — Vol. 31. — P. 1544—1549.
44. Xiao S., Zhang X., Mann K.K. et al. Changes in sensitivity of peripheral lymphocytes of autoimmune gld mice to FasL-mediated apoptosis reveal a mechanism for the preferential deletion of CD4-CD8-B220+ cells // *Int. Immunol.* — 2004. — Vol. 16. — P. 759—766.
45. Zhao Z., Yu S., Fitzgerald D.C. et al. IL-12R β -2 promotes the development of CD4+CD25+ regulatory T cells // *J. Immunol.* — 2008. — Vol. 181. — P. 3870—3876.

CHANGES IN THE PROFILE OF PROINFLAMMATORY AND ANTIINFLAMMATORY CYTOKINES DURING PROGRESSION OF ALCOHOL LIVER DISEASE

- PANCHENKO L.F.** Dr.med.sci., Professor, Academician RAMS, Head of laboratory of biochemistry of National Research Center for Addictions, Moscow
- PIROZHKOVA S.V.** Dr.med.sci., Professor, Leading Researcher of laboratory of biochemistry of National Research Center for Addictions, Moscow
- NAUMOVA T.A.** Cand. Biol. Sci., Senior Researcher of laboratory of biochemistry of National Research Center for Addictions, Moscow
- TEREBILINA N.N.** Cand. med. sci., Senior Researcher of laboratory of biochemistry of National Research Center for Addictions, Moscow
- BARONETZ V.Yu.** Senior Researcher of laboratory of biochemistry of National Research Center for Addictions, Moscow
- FIODOROV L.G.** Assistant of Department of hospital therapy of Russian State Medical University
- TOTOLYAN G.G.** Post-graduate student of Russian State Medical University

Role of immunopathologic mechanisms in the initiation and progression of alcohol liver disease (ALD) has been studied in 73 alcohol addicts of whom 22 persons suffered from alcohol hepatitis and 51 from alcohol liver cirrhosis (ALC). Samples of blood were used to determine the levels of serum endotoxin, pro- and anti-inflammatory cytokines, parameters of the immune status, and to compare it with the appropriate data from 39 healthy control individuals. In patients with ALD increased levels of serum endotoxin have been found. This agent binds to specific receptors on the surface of cells of natural immunity that are abundant in the liver, and initiates a shift in the cytokines profile toward the proinflammatory varieties. Intracellular signal transduction mechanisms stimulated by proinflammatory cytokines cause an excessive production of more inflammatory mediators, vasoactive substances, including NO, active oxygen species and NO leading to transformation of Ito cells to fibroblast-like cells synthesizing anomalous proteins of the extracellular matrix. The latter induce the process of fibrogenesis. Progression of the liver pathology is accompanied by an accruing deficit of the adaptive immunity cells, and especially of the regulatory CD4+ T-lymphocytes. This is suggested by a considerable decrease of the ecto-5'-nucleotidase activity that serves as marker of T-cells. Depletion of the regulatory T-cells responsible for suppression of excessive inflammatory reactions and for elimination of the autoaggressive clones of T-lymphocytes may facilitate the autoimmune process of liver destruction. The significance of changes in IL-4 and TGF- β that are converted from their predominantly antiinflammatory and regulatory effects in patients with alcohol hepatitis to proinflammatory, profibrogenic and autoimmune-promoting effects in patients with ALC is discussed.

Key words: alcohol liver disease, endotoxin, cytokines, immune status