



УДК 616.36-003.826:616.379-008.64

## ЛИПОТОКСИЧЕСКИЙ СТРЕСС И ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ КАК ФАКТОРЫ РАЗВИТИЯ НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА

**Т.Д. ЗВЯГИНЦЕВА**  
**С.В. ГЛУЩЕНКО**

*Харьковская медицинская академия  
последипломного образования,  
Украина*

*e-mail:stadias@mail.ru*

В статье изложены данные о нарушениях цитокинового профиля и процессов перекисного окисления липидов при неалкогольном стеатогепатите и сочетании неалкогольного стеатогепатита с сахарным диабетом 2 типа.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, неалкогольный стеатогепатит, перекисное окисление липидов, цитокины, сахарный диабет.

Актуальность проблемы неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) в настоящее время обусловлена широким распространением, прогрессивным течением, недостаточной эффективностью применяемых методов диагностики, лечения, профилактики и нередко трансформацией в гепатоцеллюлярную карциному [1, 2].

Распространенность НАЖБП во взрослой популяции составляет 20-30% в странах Западной Европы, 15% – в странах Азии и 34% в США [6, 12, 14].

Распространенность НАЖБП выше у лиц с инсулинорезистентностью (ИР), развитие которой наблюдается при сахарном диабете (СД) 2 типа, ожирении, дислипидемии, метаболическом синдроме. Эти заболевания имеют общие патогенетические факторы, предопределяющие их развитие и прогрессирование [2]. Среди больных СД 2 типа НАЖБП диагностируется у 50-75% пациентов, а при сочетании с ожирением, по данным разных авторов, достигает от 90% до 100% [9, 12]. Сочетание СД 2 типа с НАЖБП в 2-2,5 раза увеличивает риск развития цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы и занимает 4-е место среди причин летальности больных СД. НАСГ является причиной 5-8% трансплантаций печени, выполненных в США и в странах Европейского союза [8].

НАЖБП, будучи мультифакторным и многостадийным заболеванием, тесно взаимосвязана с метаболическим синдромом. Основная роль в патогенезе неалкогольного стеатоза печени и стеатогепатита отводится инсулинорезистентности, инициирующей липолиз висцерального жира, высвобождение свободных жирных кислот, что, в свою очередь, приводит к глюконеогенезу, жировой инфильтрации печени, а в последующем к развитию воспалительной реакции в печени [4].

В развитии и прогрессировании НАЖБП важную роль играют провоспалительные цитокины – фактор некроза опухолей  $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) и интерлейкин 6 (ИЛ-6). Согласно данным зарубежных исследований ФНО- $\alpha$  повышает синтез белка Vcl-2, вызывающего апоптоз гепатоцитов, активирует ядерный транскрипционный фактор каппа В в гепатоцитах, что приводит не только к развитию ИР, но и запуску каскада оксидативного стресса [14]. ИЛ-6 является индуктором синтеза провоспалительных белков. У здоровых людей уровень ИЛ-6 в плазме крови ниже 10 пг/мл. У пациентов с НАСГ имеется повышение уровней интерлейкинов в плазме крови, а при СД 2 типа эти показатели еще больше повышаются и могут достигать 100 пг/мл [13]. При этом степень повышения уровня ИЛ-6 коррелирует с выраженностью ИР [9].

Центральную роль в механизмах развития стеатогепатита играет индукция липотоксического стресса. Наличие в печени повышенного количества окисляемого жира запускает каскад ПОЛ [5]. В результате активации процессов ПОЛ вырабатывается большое количество свободных радикалов, которые индуцируют повышенный синтез провоспалительных цитокинов [4, 7]. Усиление процессов ПОЛ отражает нарастание в плазме крови ТБК-активных метаболитов, что приводит к повышению продукции макрофагами трансформирующего фактора роста  $\beta$  и продукции коллагена, активируя звездчатые клетки, являющиеся основными продуцентами коллагена. Продукты ПОЛ индуцируют перекрестное связывание цитокератинов с формированием телец Мэллори и стимулируют хемотаксис нейтрофилов, что также способствует повреждению гепатоцитов и развитию стеатогепатита [3, 10]. Многочисленные исследования подтверждают важность липотоксического стресса как критиче-ского патофизиологического механизма НАЖБП [11, 16].

Реактивные формы кислорода, в частности оксид азота, обладают прямой цитотоксичностью и могут провоцировать гибель гепатоцитов и способствовать секреции цитокинов мононуклеарными фагоцитами, которые потенцируют патологические процессы, приводящие к прогрессированию заболевания. На фоне нарастающей секреции провоспалительных цитокинов реактивные формы кислорода способствуют разобщению процесса окислительного фосфорилирования, истощению митохондриальной АТФ и, в конечном итоге, повреждению гепатоцитов и их некрозу [4, 5]. Образование



потенциально токсичных промежуточных продуктов обмена свободных жирных кислот запускает и поддерживает каскад воспалительных реакций в печени, обуславливает формирование митохондриальной дисфункции, активации липоцитов печени, что является предиктором развития фиброза печени [11].

**Цель работы** – изучение показателей цитокинового профиля (ФНО-α и ИЛ-6) и ПОЛ (ТБК-активные метаболиты и оксид азота) у больных НАСГ и в сочетании с СД 2 типа.

**Материалы и методы.** Под нашим наблюдением находилось 40 больных в возрасте от 25 до 66 лет. Первая группа включала 21 (52,5%) больного с изолированным течением НАСГ. Во второй группе – НАСГ сочеталась с СД 2 типа 19 (47,5%) пациентов. Контрольную группу составили 20 здоровых добровольцев.

У всех больных диагноз верифицирован с помощью инструментальных – ультразвуковое исследование (УЗИ) и клиничко-лабораторных методов исследования. Для исключения вирусной этиологии поражения печени определяли маркеры гепатитов В и С методом ПЦР. Критериями исключения служили употребление алкоголя или гепатотропных ядов в анамнезе. Функциональное состояние печени оценивали по уровню общего билирубина и его фракций (метод Ендрашика – Клеггорна – Гроффа), активности щелочной фосфатазы (с помощью фотоэлектрического колориметра КФК-2 по гидролизу п-нитрофенилфосфата), АСТ и АЛТ (унифицированный динитрофенилгидразиновый метод Райтмана-Френкеля), тимоловой пробы (унифицированный метод). Образование метаболитов активных форм кислорода оценивали по содержанию ТБК-активных продуктов в плазме крови. NO-метаболиты определяли в плазме крови с помощью реактива Грисса. ФНО-α и ИЛ-6 определяли методом ИФА (с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест»).

Полученные результаты подвергнуты статистической обработке с вычислением средних величин (M±m) с использованием критерия достоверности по Стьюденту (статистически достоверными считались результаты при значении  $p < 0,05$ , а высоко достоверными при  $p < 0,01$ ). Результаты исследования обработаны с помощью программного обеспечения Microsoft Excel и PAST.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Увеличение размеров печени было диагностировано у 90% пациентов: у 20 больных (50%) в первой группе и у 16 (40%) – во второй. При УЗИ определялось повышение эхогенности печени – диффузное увеличение «яркости» печёночной паренхимы, нечеткость сосудистого рисунка, дистальное затухание эхо-сигнала.

У больных НАСГ и НАСГ в сочетании с СД 2 типа имело место достоверное повышение уровня АЛТ и АСТ относительно контрольной группы ( $p < 0,001$ ). У больных первой группы показатели АЛТ составили  $106,056 \pm 10,227$  Ед/л, АСТ –  $94,943 \pm 9,207$  Ед/л. У пациентов второй группы уровень АЛТ был повышен до  $93,583 \pm 7,850$  Ед/л, АСТ до  $86,250 \pm 6,469$  Ед/л. Между первой и второй группами достоверных различий не было, хотя уровень АЛТ был выше у больных НАЖБП (первая группа) в 1,13 раза, а АСТ – в 1,1 раза.

Средние значения показателей, отражающих функциональное состояние печени – белковые фракции сыворотки крови, уровень билирубина и его фракций, щелочной фосфатазы, тимоловой пробы, у пациентов ни одной из групп не выходили за рамки физиологических показателей нормы и достоверно не отличались от аналогичных значений контрольной группы.

Изучая показатели цитокинового профиля (табл. 1), было выявлено достоверное увеличение уровня ФНО-α в обеих группах по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,001$ ). В обеих группах больных ИЛ-6 был достоверно ( $p < 0,001$ ) повышен по сравнению с контролем. Уровень ИЛ-6 был выше во второй группе пациентов по сравнению с первой ( $p < 0,001$ ).

Таблица 1

**Показатели цитокинового профиля у больных НАСГ и НАСГ в сочетании с СД 2 типа**

Показатель, единицы измерения	НАСГ (n=21)	НАСГ+СД 2 тип (n=19)	Контрольная группа (n=20)
ФНО-α, пг/мл	$8,605 \pm 0,838^*$	$8,145 \pm 0,761^*$	$1,845 \pm 0,245$
ИЛ-6, пг/мл	$19,649 \pm 2,491^*$	$24,353 \pm 4,39^{\#}$	$1,813 \pm 0,59$

Примечание: \* –  $p < 0,001$  достоверность различий в сравнении с группой контроля;

# –  $p < 0,001$  достоверность различий между пациентами первой и второй групп

Выявлена положительная корреляционная связь в первой группе больных между ФНО-α и АЛТ ( $r = 0,92$ ), ФНО-α и АСТ ( $r = 0,54$ ), ФНО-α и ИЛ-6 ( $r = 0,5$ ). Во второй группе определялась высокая корреляционная зависимость между ФНО-α и ИЛ-6 ( $r = 0,83$ ), тогда как между ФНО-α и АСТ ( $r = 0,47$ ), ФНО-α и АЛТ ( $r = 0,36$ ) корреляция была выражена меньше. Повышение уровня ИЛ-6 коррелировало с изменением уровня АСТ в обеих группах: в первой группе  $r = 0,54$ , во второй –  $r = 0,59$ . Наличие корреляционных связей между провоспалительными цитокинами и цитолитическими ферментами пе-



чени свидетельствует об участии ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 в индукции гибели гепатоцитов. Это подтверждается литературными данными о роли ФНО- $\alpha$  в развитии митохондриальной дисфункции и как следствие инициации апоптоза печеночных клеток. ИЛ-6 индуцирует синтез белков острой фазы, таких как фибриноген и С-реактивный белок, что также приводит к воспалению и гибели гепатоцитов [17].

При изучении показателей ПОЛ (табл. 2), установлено достоверное повышение уровня NO в обеих группах ( $p < 0,001$ ). Наибольшее увеличение уровня NO в 1,1 раза наблюдалось при сочетании НАСГ и СД 2 типа. В обеих группах показатели ТБК-активных метаболитов превышали контрольные значения с высокой степенью достоверности ( $p < 0,001$ ), и при сравнении между группами различия были достоверны ( $p < 0,001$ ).

Таблица 2

### Показатели ПОЛ у больных НАСГ и НАСГ в сочетании с СД 2 типа

Показатель, единицы измерения	НАСГ (n=21)	НАСГ+СД 2 тип (n=19)	Контрольная группа (n=20)
ТБК, мкмоль/л	8,977 $\pm$ 1,691*	13,384 $\pm$ 2,488*#	2,817 $\pm$ 0,368
NO, мкмоль/л	154,192 $\pm$ 32,833*	169,054 $\pm$ 33,688*	47,46 $\pm$ 7,183

Примечание: # –  $p < 0,001$  достоверность различий между пациентами первой и второй групп;

\* –  $p < 0,001$  достоверность различий в сравнении с группой контроля

Изучая корреляцию между показателями ПОЛ и некоторыми показателями цитокинового профиля была выявлена положительная корреляция между NO и ИЛ-6 ( $r=0,94$ ) и ФНО- $\alpha$  и NO ( $r=0,64$ ) в первой группе больных. Наличие положительной корреляционной связи между ФНО- $\alpha$  и NO свидетельствует об участии ФНО- $\alpha$  в индукции окислительного стресса. Полученные результаты согласуются с данными литературы о соответствии повышенного уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови и высоких показателей NO и его метаболитов [7,11]. Во второй группе определялась сильная корреляционная зависимость между уровнем ТБК-активных метаболитов и ФНО- $\alpha$  ( $r=0,89$ ), что подчеркивает системность метаболических нарушений при сочетанном течении заболеваний.

#### Выводы:

1. У больных НАСГ и в сочетании с СД 2 типа выявлено достоверное повышение уровней провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6) и продуктов перекисного окисления липидов (ТБК-активные метаболиты и оксид азота).

2. Установлено влияние ФНО- $\alpha$  на цитолитические ферменты печени, уровни показателей системы ПОЛ.

3. Полученные результаты свидетельствуют о значительной активации окислительных процессов, связанных с образованием продуктов перекисного окисления липидов, накоплением метаболитов оксида азота, что является одной из основных причин развития и прогрессирования заболевания.

#### Литература

1. Драпкина О.М. Патогенез, лечение и эпидемиология НАЖБП – что нового? Эпидемиология НАЖБП в России / О.М. Драпкина, В.И. Смирин, В.Т. Ивашкин // Российский медицинский журнал. – 2011. – Т. 19. – № 28. – С. 1717-1721.
2. Звягинцева Т.Д. Лечение хронических диффузных заболеваний печени: какие возможности открывает перед нами применение гепатопротекторов? / «Здоров'я України». – 2009. – № 12/1. – С. 32-33.
3. Ивашкин В.Т., Павлов Ч.С. Фиброз печени. – М.: ГЭОДАР-Медиа, 2011. – 168 с.
4. Компилова К.А. Неалкогольная жировая болезнь печени при ожирении / К.А. Компилова, Е.А. Трошина, С.А. Бутрова // Ожирение и метаболизм. – 2011. – № 3. – С. 3-11.
5. Скрышник И.Н. Роль гипоксии в развитии заболеваний органов пищеварения и обоснование применения антигипоксантов в гастроэнтерологии / И.Н. Скрышник, А.В. Вахненко // Сучасна гастроентерологія. – 2010. – № 4 (54). – С. 90-100.
6. Ткач С.М. Распространенность, течение, диагностика и стратегии лечения неалкогольной жировой болезни печени // Здоровье Украины. – 2009. – № 1-2. – С. 63-65.
7. Шварц В.Я. Регуляция метаболических процессов интерлейкином 6 // Цитокины и воспаление. – 2009. – Т. 8. – № 3. – С. 3-10.
8. Chalasani N. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology // Gastroenterology. – 2012. – Vol. 142. – P. 1592-1609.
9. De Alwis N. M. W. Non-alcoholic fatty liver disease: the mist gradually clears / N.M.W. de Alwis, C.P. Day // J Hepatol. – 2008. – Vol. 48, Suppl. 1. – P. 104 – 112.
10. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease / V.W. Wong, J. Vergnion, G.L. Wong [et al.] // Hepatology. – 2010. – Vol. 51 (2). – P. 454-462.
11. Long-Term Follow-up of Patients With NAFLD and Elevated Liver Enzymes / M. Ekstedt, L.E. Franzen, U. L. Mathiesen [et al.] // Hepatology. – 2006. – Vol. 44. – P. 865-873.



12. Musso G., Non-alcoholic fatty liver disease from pathogenesis to management: an update / G. Musso, R. Gambino, M. Cassader // *Obesity Reviews*. – 2010. – № 11(6). – P. 430-450.
13. Non-alcoholic hepatic steatosis and its relation to increased plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction in non-diabetic men. Role of visceral adipose tissue / G. Targher, L. Bertolini, L. Scala [et al.] // *Diabet Med*. – 2005. – № 22 (10). – P. 1354-1358.
14. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study / G. Bedogni, L. Miglioli, F. Masutti [et al.] // *Hepatology*. – 2005. – № 42 (1). – P. 44-52.
15. Stefan N., Causes and Metabolic Consequences of Fatty Liver / N. Stefan, K. Kantartzis, H. Häring // *Endocrine Reviews*. – 2008. – № 29(7). – P. 939-60.
16. Torer N. Importance of cytokines, oxidative stress and expression of BCL-2 in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis / N. Torer, S. Ozenirler, A. Yucel [et al.]. // *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. – 2007. – № 42 (9). – P. 1095-101.
17. Younossi Z.M. Review article: current management of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis / Z.M. Younossi // *Aliment. Pharmacol. Ther*. – 2008. – Vol. 28 (1). – P. 2-12.

## **LIPOTOXIC STRESS AND PROINFLAMMATORY CYTOKINES AS FACTORS IN THE DEVELOPMENT OF NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS**

**T.D. ZVYAGINTSEVA  
S.V. GLUSHCHENKO**

*Kharkov Medical Academy  
of Postgraduate Education,  
Ukraine*

*e-mail: stadias@mail.ru*

The article presents evidence of human cytokine profile and lipid peroxidation in non-alcoholic steatohepatitis and non-alcoholic steatohepatitis combined with type 2 diabetes mellitus.

Keywords: non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis, lipid peroxidation, cytokines, diabetes mellitus.