

В АВАНГАРДЕ НАУКИ: ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИЯ

Э. Албано, Междисциплинарный научно-исследовательский центр аутоиммунных заболеваний, Университет «Амадео Авогадро», г. Новара, Италия

Роль адаптивного иммунитета при алкогольной болезни печени

По данным ВОЗ, заболевания, связанные с употреблением алкоголя, занимают 3-е место среди основных причин смерти и нетрудоспособности в наиболее развитых странах и являются ведущей причиной заболеваемости в развивающихся странах Восточной Европы, Центральной и Южной Америки и Восточной Азии. Этанол поражает многие органы и системы, однако самым частым медицинским последствием злоупотребления алкоголем является алкогольная болезнь печени (АБП), которая составляет 70% случаев в структуре причин ассоциированной смертности. Поэтому понимание механизмов, ответственных за алкогольное повреждение печени, имеет большое клиническое и социальное значение. По современным представлениям, в патогенез АБП вовлечено множество факторов, в том числе окислительный стресс, дисфункция эндоплазматического ретикулума, метаболические нарушения, вмешательство в передачу сигналов внутри клетки и др. Появляется все больше данных о том, что движущей силой прогрессирования алкогольного повреждения печени является хроническое воспаление. В настоящем обзоре приводятся результаты исследований, в которых изучалась роль адаптивного (приобретенного) иммунитета в развитии воспалительного процесса, ассоциированного с АБП.

В ранних исследованиях было установлено, что воспалительные инфильтраты при алкогольном гепатите и активном алкогольном циррозе содержат CD8+ и CD4+ Т-лимфоциты. У экспериментальных животных и у людей, подвергающихся хроническому воздействию больших доз алкоголя, инфильтрирующие печень Т-клетки экспрессируют фенотип активации/памяти и на стимуляцию Т-клеточных рецепторов отвечают продукцией Th1-цитокинов, таких как интерферон α (IFN α) и фактор некроза опухоли γ (TNF α). У пациентов с АБП в крови циркулируют антитела против собственных гепатоцитов, измененных под действием алкоголя. У злоупотребляющих алкоголем часто имеет место гиперпродукция поликлональных γ -глобулинов, сочетающаяся с отложением в тканях IgA. Кроме того, у больных АБП нередко обнаруживаются признаки аутоиммунного процесса, включающие повышенные титры циркулирующих антител против неспецифических и печеночноспецифических аутоантигенов. В частности, антифосфолипидные антитела у пациентов с алкогольным гепатитом или циррозом могут выявляться с частотой до 80%, однако они нередко обнаруживаются и у злоупотребляющих алкоголем с более легким повреждением печени. Согласно недавно полученным данным, у пациентов с алкогольным гепатитом или циррозом печеночные воспалительные инфильтраты содержат Th17 (Т-хелперы, продуцирующие интерлейкин-17 – IL-17), что сопровождается повышенными уровнями IL-17 в плазме. В настоящее время появляется все больше данных о том, что Th17 вовлечены в патогенез различных хронических воспалительных заболеваний, включая вирусный гепатит В и С и первичный билиарный цирроз.

Роль окислительного стресса при алкоголь-индуцированных иммунных реакциях

Механизмы, посредством которых алкоголь запускает адаптивный иммунитет, описаны не полностью. Еще в 1980-х гг. в экспериментальных исследованиях на животных было установлено, что побочные продукты обмена ацетальдегида связываются с печеночными белками, вызывая продукцию специфических антител. Иммунизация морских свинок гемоглобином, модифицированным ацетальдегидом, с последующим помещением на алкогольную диету приводила к развитию типичного алкогольного гепатита. В последующих исследованиях было установлено, что другой метаболит этанола – гидроксипропановый свободный радикал (HER), образующийся посредством CYP2E1-зависимого окисления, – может взаимодействовать с белками с формированием антител, отличающихся от ацетальдегидных. Анти-HER IgG обнаруживаются как у животных, помещенных на алкогольную диету, так и у людей, хронически злоупотребляющих алкоголем. У человека наличие анти-HER IgG строго коррелирует с активностью CYP2E1.

Отличительным признаком алкогольной гепатопатологии является окислительный стресс, вносящий значительный

вклад в повреждение печени. Одним из его последствий является стимуляция перекисного окисления липидов (ПОЛ) с образованием широкого спектра реактивных продуктов распада, включая альдегиды, такие как малоновый диальдегид (МДА) и 4-гидроксиноненал, и липидные гидроперекиси, легко выявляемые в сыворотке больных АБП. Многие продукты ПОЛ являются высокорективными и путем взаимодействия с компонентами клетки способствуют образованию антигенных веществ, стимулирующих иммунные ответы, подобные наблюдающимся при атеросклерозе и различных аутоиммунных заболеваниях. По нашим наблюдениям, у 55-70% пациентов с поздними стадиями АБП (с алкогольным гепатитом и/или циррозом) выявляются повышенные титры циркулирующих IgG против белков, связанных с МДА, 4-гидроксиноненалом и окисленной арахидоновой кислотой; при этом у злоупотребляющих алкоголем с начальным поражением печени (стеатозом) эти IgG отсутствовали. Примерно у 35% пациентов наличие анти-МДА антител ассоциировалось с обнаружением в периферической крови CD4+ Т-лимфоцитов, ответственных за продукцию МДА-конъюгатов, что свидетельствует о способности антигенов ПОЛ активировать как гуморальное, так и клеточное звено адаптивного иммунитета.

В ходе реакции между МДА, ацетальдегидом и ϵ -аминогруппами лизина образуются продукты конденсации – малондиальдегидно-ацетальдегидные аддукты (МДА), которые не только являются высокоиммуногенными, но и способны стимулировать воспаление. У пациентов с поздними стадиями АБП наличие МДА коррелирует с повышенными титрами IgG против белков, модифицированных МДА. Учитывая, что при алкогольной интоксикации в печени в больших количествах образуются МДА и ацетальдегид, МДА могут играть значительную роль в запуске иммунного ответа при АБП. Примечательно, что грызуны и человек имеют природные циркулирующие антитела, преимущественно класса IgM, связывающиеся с эпитопами – продуктами окисления, в частности МДА. Эти антитела демонстрируют протекторное действие против атеросклероза, выступая в качестве сквенджеров («мусорщиков») окисленных липопротеинов низкой плотности и предотвращая воспаление. По нашим данным, гуморальный ответ у пациентов с АБП состоит только из IgG, в то время как уровни IgM против МДА не отличаются от таковых у здоровых добровольцев. Это свидетельствует о том, что выраженное ПОЛ, вызываемое злоупотреблением алкоголем, может истощать протекторный потенциал естественных IgM и в сочетании с воспалительными стимулами способствовать активации клонов В- и Т-клеток, распознающих разнообразие антигены – продукты окисления.

Окислительный стресс также участвует в формировании АБП-ассоциированных антифосфолипидных антител, так как последние распознают как антигены окисленные фосфолипиды кардиолипиды

и фосфатидилсерин. У пациентов с хроническим гепатитом С даже умеренное употребление алкоголя ассоциируется с дозозависимым увеличением концентрации IgG против антигенов – продуктов ПОЛ, что указывает на синергическое действие этанола и HCV на окислительный стресс в гепатоцитах.

Предполагаемые механизмы активации адаптивного иммунитета при АБП

Хорошо известно, что злоупотребление алкоголем влияет на врожденный и приобретенный иммунитет путем повышения чувствительности к инфекциям и ухудшения ответа тканей на повреждение. В частности, как острое, так и хроническое употребление алкоголя подавляет презентацию антигенов моноцитами и дендритическими клетками, нарушает экспрессию костимуляторных молекул и ингибирует пролиферацию Т-лимфоцитов. Однако по мере прогрессирования АБП продукция провоспалительных цитокинов и хемокинов купферовскими клетками и природными киллерами может преодолеть алкоголь-зависимую иммунную супрессию, способствуя таким образом ответу интрапортальных лимфоидных фолликулов на антигены, которые образуются из поврежденных продуктами окисления гепатоцитов. Посредством ряда механизмов алкоголь-индуцированный окислительный стресс может специфически облегчать данный процесс. У грызунов и у человека хроническое употребление алкоголя повышает уровни циркулирующих биологически активных окисленных фосфолипидов, способных взаимодействовать с рецепторами фактора активации тромбоцитов (PAF) и стимулировать воспаление. Кроме того, комплексы окисленных липидов и белков с конечными продуктами ПОЛ действуют как DAMP (молекулярные паттерны, связанные с опасностью) и могут активировать воспалительные и иммунные клетки путем взаимодействия с PRR (рецепторами, распознающими паттерны), такими как рецепторы-сквенджер (SRA-1, 2, CD36, SR-B1, LOX-1) и toll-подобные рецепторы 4 типа (TLR-4). CD36 эффективно распознает свободные и связанные с белками окисленные липиды, облегчая их интернализацию макрофагами и антигенпрезентирующими клетками с последующей презентацией иммунным клеткам. Взаимодействие между CD36 и TLR-4 также вызывает провоспалительную активацию макрофагов и сосудистых эндотелиальных клеток в ответ на специфические эпитопы. Презентация антигенов, образовавшихся вследствие окислительного стресса, звездчатыми клетками печени (ЗКП) является дополнительным путем активации CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, так как ЗКП человека обладают способностью интернализировать окисленные белки посредством CD36.

В экспериментах на крысах, помещенных на алкогольную диету, было установлено, что печеночная экспрессия мРНК Th1-цитокинов (TNF α , IL-12) имеет двухфазный характер: первый пик наблюдается в среднем через 14 дней после начала

воздействия алкоголя, второй пик – через 35 дней. Окислительный стресс развивается уже через несколько дней после воздействия алкоголя, однако ПОЛ-ассоциированные антитела появляются позже, одновременно с повышением продукции цитокинов, и их появление можно предотвратить путем назначения антиоксиданта N-ацетилцистеина.

В развитии адаптивных иммунных ответов при АБП определенную роль могут играть остеопонтин и адипокины лептин и адипонектин. Остеопонтин, относящийся к цитокинам, продуцируется многими клетками, в том числе макрофагами и Т-лимфоцитами, и вызывает активацию макрофагов и Т-лимфоцитов, стимулирует дифференцировку Th1 и Th17, индуцирует пролиферацию В-лимфоцитов и антителообразование. Высокие уровни остеопонтина определяются при различных воспалительных и аутоиммунных заболеваниях, при которых он вызывает рекрутинг аутореактивных Т-лимфоцитов и дифференцировку Th1 и Th17. У грызунов, получающих алкоголь, повышенная продукция остеопонтина в печени прямо коррелирует с выраженностью воспаления, а у пациентов с алкогольным гепатитом печеночная экспрессия мРНК этого цитокина выше, чем у злоупотребляющих алкоголем лиц с начальными изменениями в печени (стеатозом). Лептин и адипонектин, продуцируемые жировой тканью, обладают иммунорегулирующими функциями: лептин повышает выживаемость и пролиферацию лимфоцитов в направлении Th1, в то время как адипонектин снижает активность макрофагов и пролиферацию В- и Т-клеток. Алкоголь изменяет продукцию адипокинов адипоцитами; в частности, у пациентов с АБП наблюдаются повышенные уровни лептина и сниженная секреция адипонектина.

Характерной особенностью АБП является одновременное наличие аутоантител, не специфических к какому-либо органу, и печеночноспецифических аутоантител. По нашим данным, у экспериментальных животных, получающих алкоголь, и у 40% пациентов с поздними стадиями АБП начинают продуцироваться циркулирующие IgG против CYP2E1. Анти-CYP2E1 аутоантитела у больных АБП аналогичны таковым при галотаномовом гепатите и связываются по крайней мере с двумя отдельными конформационными эпитопами на поверхности молекул в позиции, делающей возможным связывание с CYP2E1, представленным на наружном слое плазматической мембраны гепатоцита. Появление антител к изоферментам системы цитохрома P450 (CYP) встречается и при других заболеваниях печени, в частности при аутоиммунном гепатите 2 типа, лекарственно-индуцированном гепатите и вирусном гепатите С. В случае лекарственно-индуцированного гепатита связывание реактивных метаболитов с изоферментами CYP запускает гуморальный ответ против эпитопов – продуктов обмена лекарств и в то же время способствует активации покоящихся в норме аутореактивных лимфоцитов, распознающих нативные молекулы CYP. У больных АБП с анти-HER антителами риск развития повышенной аутореактивности против CYP2E1 в 4 раза выше по сравнению с таковым у пациентов с АБП, не имеющих данных антител. Это свидетельствует о том, что при АБП алкилирование CYP2E1 под действием HER принимает непосредственное участие в появлении анти-CYP2E1 аутоантител. Тем не менее определенная роль в этом процессе может принадлежать генетическим факторам, в частности полиморфизму CTLA-4 (антигена 4, ассоциированного с цитотоксическими Т-лимфоцитами), при котором

треонин в 17 позиции заменяется аланином. Наличие такого полиморфизма в 3,8 раза повышает риск появления анти-CYP2E1 IgG, не влияя при этом на образование анти-HER антител. У пациентов с анти-HER IgG и мутированным CTLA-4 распространенность анти-CYP2E1 аутореактивности в 23 раза выше, чем у лиц, не имеющих этих двух факторов. CTLA-4 – мембранный рецептор, экспрессируемый активированными Т-лимфоцитами и CD25+ регуляторными Т-лимфоцитами, который подавляет Т-клеточно-опосредованные реакции на антигены. Соответственно, у человека генетические полиморфизмы CTLA-4 являются предрасполагающими факторами развития различных аутоиммунных заболеваний, включая первичный билиарный цирроз и аутоиммунный гепатит 1 типа. Недавно было продемонстрировано, что иммунизация мышей МАА-модифицированными белками цитозоля печени при отсутствии каких-либо адьювантов вызывает аутоиммунное повреждение печени. Это означает, что у некоторых пациентов с АБП сочетание трех факторов: модификации CYP2E1 под действием HER, нарушенного контроля пролиферации Т-лимфоцитов CTLA-4 и стимуляции иммунной системы продуктами ПОЛ – может приводить к срыву аутоотолерантности. Согласно предварительным данным, высокие титры анти-CYP2E1 аутоантител коррелируют с выраженностью лимфоцитарной инфильтрации печени и количеством гепатоцитов в состоянии апоптоза, что свидетельствует об участии аутоиммунных механизмов в повреждении печени при АБП.

Роль адаптивного иммунитета в прогрессировании алкогольного повреждения печени

Потенциальные механизмы влияния адаптивного иммунитета на прогрессирование воспаления печени при АБП остаются малоизученными. Тем не менее в исследованиях с использованием экспериментальных моделей атеросклероза было установлено, что под действием IFN γ , TNF α и лиганда CD40 (CD154), продуцируемых CD4+ Т-лимфоцитами в ответ на антигены окисленных липопротеинов низкой плотности, макрофаги в атеросклеротических бляшках начинают продуцировать активные формы кислорода, NO и провоспалительные цито- и хемокины. В экспериментах на грызунах, находящихся на алкогольной диете, появление антител к продуктам ПОЛ ассоциировалось с печеночной экспрессией провоспалительных цитокинов и гистологическими признаками стеатогепатита. Проспективные исследования у человека выявили связь между наличием антител к алкогольмодифицированным гепатоцитам и повышенным риском развития алкогольного цирроза печени. У злоупотребляющих алкоголем пациентов, имеющих антитела к продуктам ПОЛ, вероятность высоких уровней TNF α в плазме в 5 раз выше, чем у больных алкоголизмом с нормальными уровнями данных антител. В свою очередь, сочетание высоких уровней TNF α и антител к продуктам ПОЛ у таких пациентов в 11 раз увеличивает риск развития АБП поздних стадий. Интересно, что у больных хроническим гепатитом С, употребляющих алкоголь даже в небольших количествах, сочетание стеатоза и высоких титров антител к продуктам ПОЛ является независимым предиктором выраженного фиброза/цирроза печени.

Дополнительные данные, подтверждающие роль иммунного ответа на окислительный стресс в поддержании воспаления в печени, были получены в исследованиях неалкогольного стеатогепатита (НАСГ). Согласно нашим наблюдениям, антитела к антигенам – продуктам ПОЛ, не отличимые от таковых при АБП, обнаруживаются на экспериментальной модели НАСГ у грызунов, а также у 60% детей с НАСГ и у 40% взрослых с НАСГ. У детей с неалкогольной

жировой болезнью печени высокие титры анти-МДА IgG, но не других маркеров окислительного стресса, ассоциировались с более выраженным воспалением печеночных долек и 13-кратным повышением риска развития явного стеатогепатита. В ходе эксперимента мы установили, что у мышей с НАСГ анти-МДА IgG связывается со специфическими антигенами в очагах некротического воспаления в печени, что приводит к образованию иммунных комплексов. Гистологическое исследование биоптатов печени пациентов с НАСГ показало наличие обширных отложений различных фракций комплемента, что сопровождалось повышенным апоптозом гепатоцитов, гранулоцитарной инфильтрацией и повышенной печеночной экспрессией мРНК IL-1 β , IL-6 и IL-8. Это означает, что по мере прогрессирования АБП активация комплемента может служить связующим звеном между врожденным

и приобретенным иммунитетом. В поддержку этого предположения свидетельствуют недавно полученные данные о том, что активация комплемента в печени мышей, находящихся на алкогольной диете, вызывает повышенную продукцию анафилатоксина С3а; при этом мыши с дефицитом С3 и С5 были защищены от алкогольного повреждения печени, а отсутствие комплементрегулирующего белка CD55/DAF усугубляло гепатотоксичность алкоголя.

Таким образом, на сегодня установлено, что алкоголь-индуцированные окислительные изменения печеночных клеток запускают специфические иммунные ответы и в определенных ситуациях могут способствовать преодолению аутоотолерантности к компонентам печени. Алкоголь способен стимулировать различные пути врожденного иммунитета и благодаря этому облегчать развитие адаптивных иммунных ответов.

Кроме того, получены не прямые доказательства того, что прогрессированию печеночного воспаления при АБП способствуют как гуморальные, так и клеточные иммунные реакции на алкоголь. Подтверждение роли адаптивного иммунитета при АБП в проспективных клинических исследованиях позволит разработать простые иммунологические тесты, с помощью которых можно будет выявлять больных АБП с повышенным риском прогрессирования в цирроз, а также идентифицировать злоупотребляющих алкоголем пациентов с выраженной иммунной или аутоиммунной составляющей заболевания печени с целью индивидуализированного назначения иммуносупрессивной терапии.

Список литературы находится в редакции.

International Journal of Hepatology 2012. Article ID 893026

Перевел с англ. Алексей Терещенко

ЛІВОЛІН

Форме

Р.С. МОЗ України №УА/5581/01 від 15.12.2006, відпускається без рецепту

Потрійний захист печінки

у м'якій нероз'ємній желатиновій капсулі

Перед застосуванням лікарського засобу необхідна консультація з лікарем

Перед використанням обов'язково ознайомтесь з інструкцією до застосування