

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-207-11-128-134>

Коллагены третьего и четвертого типов при разных формах алкогольной болезни печени

Дуданова О. П.¹, Родина А. С.¹, Шубина М. Э.¹, Курбатова И. В.², Топчиева Л. В.²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Петрозаводский государственный университет» Министерства науки и образования Российской Федерации, 185910, г. Петрозаводск, пр. Ленина 33, Россия

² Институт биологии — обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», 185910, г. Петрозаводск, Пушкинская ул., 11, Россия

Для цитирования: Дуданова О. П., Родина А. С., Шубина М. Э., Курбатова И. В., Топчиева Л. В. Коллагены третьего и четвертого типов при разных формах алкогольной болезни печени. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;207(11): 128–134. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-207-11-128-134

✉ Для переписки:
Дуданова
Ольга Петровна
odudanova@
gmail.com

Дуданова Ольга Петровна, профессор, д.м.н., зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней и гигиены
Родина Алиса Сергеевна, ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней и гигиены
Шубина Марина Эдуардовна, к.м.н., доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней и гигиены
Курбатова Ирина Валерьевна, к.б.н., ст.н.с. лаборатории генетики
Топчиева Людмила Владимировна, к.б.н., в.н.с. лаборатории генетики

Резюме

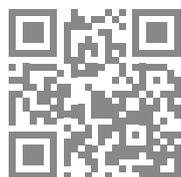
Целью исследования явилось определение клинической и диагностической значимости коллагенов третьего и четвертого типов при разных формах алкогольной болезни печени (АБП).

Материалы и методы. Обследовано 98 пациентов АБП: 13 (13,3%) стеатозом печени (СП), 15 (15,3%) — стеатогепатитом (СГ), 56 (57,1%) циррозом печени (ЦП), 14 (14,3%) тяжелым алкогольным гепатитом на фоне цирроза печени (ТАГ-ЦП). Среди обследованных было 59 (60,2%) мужчин и 39 (39,8%) женщин, средний возраст составил 53,48±11,45 года. Определяли содержание в сыворотке крови белков фиброгенеза — коллагена третьего типа (Col3) и коллагена четвертого типа (Col4) методом иммуноферментного анализа (тест-системы “Kit For Collagen Type III (Col3)” и “Kit For Collagen Type IV (Col4)”, “Cloud-Clone Corp”, USA)), маркер апоптоза гепатоцитов — фрагменты цитокератина-18 (ФЦК-18) (тест-система “Biotech”, Sweden), цитокины — ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α (TNF-α) («Вектор-Бест», Россия).

Результаты. Уровень Col3 у здоровых лиц составил 6,12±0,73 нг/мл и Col4—9,45±0,32 нг/мл. При всех формах АБП содержание коллагенов обоих типов превышало таковой у здоровых лиц: Col3 при СП составил 6,52±0,94 нг/мл ($p<0,05$ по сравнению с контролем), при СГ — 12,50±3,18 нг/мл ($p<0,05$), при ЦП — 20,96±4,93 нг/мл ($p<0,05$), при ТАГ-ЦП — 26,90±3,87 нг/мл ($p<0,05$); Col4—10,14±0,66 нг/мл ($p<0,05$), 13,87±1,15 нг/мл ($p<0,05$), 79,56±33,10 нг/мл ($p<0,05$) и 107,12±39,09 нг/мл ($p<0,05$), соответственно. Col3 позитивно коррелировал с АЛТ ($r=0,27$, $p=0,02$) и щелочной фосфатазой ($r=0,28$, $p=0,04$). Col4 коррелировал с билирубином ($r=0,74$), АСТ ($r=0,65$), с глутамилтранспептидазой ($r=0,58$), с цитокератином-18 ($r=0,56$), скоростью оседания эритроцитов ($r=0,61$), С-реактивным протеином ($r=0,59$), ИЛ-6 ($r=0,51$) и лейкоцитами ($r=0,45$) (везде $p<0,001$).

Заключение. Большее диагностическое и клиническое значение при алкогольной болезни печени продемонстрировал Col4 по сравнению с Col3. Уровень Col4 возрастал в среднем в 8 раз при прогрессировании заболевания от стеатоза печени до цирроза печени, а Col3 — только в 3 раза. Выявлялись более многообразные и более тесные связи между Col4 и маркерами печеночно-клеточного повреждения и воспаления, чем между Col3 и данными показателями.

EDN: FQGZKV



Обнаруженный максимальный подъем уровней обоих типов коллагенов при тяжелом алкогольном гепатите подтверждал важную роль данной формы болезни печени в развитии фиброза, а значит и в дальнейшей декомпенсации цирроза печени.

Ключевые слова: коллаген 3 типа, коллаген 4 типа, фиброз, алкогольная болезнь печени, апоптоз, цитокины

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.



Collagens of the third and fourth types in various forms of alcoholic liver disease

O. P. Dudanova¹, A. S. Rodina¹, M. E. Shubina¹, I. V. Kurbatova², L. V. Topchieva²

¹ Petrozavodsk State University, 33 Lenina St., Petrozavodsk, 185910, Russia

² Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, 11 Pushkinskaja St., Petrozavodsk, 185910, Russia

For citation: Dudanova O. P., Rodina A. S., Shubina M. E., Kurbatova I. V., Topchieva L. V. Collagens of the third and fourth types in various forms of alcoholic liver disease. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;207(11): 128–134. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-207-11-128-134

✉ **Corresponding author:**

Olga P. Dudanova
odudanova@gmail.com

Olga P. Dudanova, MD, PhD, Head Department of Propaedeutics of Internal Diseases and Hygiene; *Scopus Author ID: 6603343207*, *ORCID: 0000-0003-2613-5694*

Alisa S. Rodina, assistant of the department of propaedeutics of internal diseases and hygiene; *ORCID: 0000-0001-6311-3772*

Marina E. Shubina, PhD, docent of the department of propaedeutics of internal diseases and hygiene; *ORCID: 0000-0002-4272-9612*

Irina V. Kurbatova, PhD, Senior Research Associate in the Laboratory for Genetics; *ORCID: 0000-0001-7620-7065*, *Scopus Author ID 6603406315*

Ludmila V. Topchieva, PhD, Leading Researcher in the Laboratory for Genetics; *ORCID: 0000-0001-8697-2086*, *Scopus Author ID 15137309400*

Summary

The aim of the study was to determine the clinical and diagnostic significance of collagens of the third type (Col3) and the fourth type (Col4) in various forms of alcoholic liver disease (ALD).

Materials and methods. 98 patients with ALD were examined: 13 (13.3%) with liver steatosis (LS), 15 (15.3%) with steatohepatitis (SH), 56 (57.1%) with liver cirrhosis (LC), 14 (14.3%) with severe alcoholic hepatitis against the background of liver cirrhosis (SAH-LC). Among the examined there were 59 (60.2%) men and 39 (39.80%) women, the average age was 53.48±11.45 years. The content of fibrogenesis proteins in the blood serum — type III collagen (Col3) and type IV collagen (Col4) was determined by enzyme immunoassay (test systems “Kit For Collagen Type III (Col3)” and “Kit For Collagen Type IV (Col4)”, “Cloud-Clone Corp”, USA), a marker of hepatocyte apoptosis — fragments of cytokeratin-18 (FCK-18) (“Biotech” test system, Sweden), cytokines — IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, TNF-α (“Vector-Best”, Russia).

Results. The level of Col3 in healthy individuals was 6.12±0.73 ng/ml and Col4—9.45±0.32 ng/ml. In all forms of ALD, the content of both types of collagen exceeded that in healthy individuals: Col3 in LS was 6.52±0.94 ng/ml (p<0.05), in SH it was 12.50±3.18 ng/ml (p<0.05), in LC — 20.96±4.93 ng/ml (p<0.05), in SAH-LC — 26.90±3.87 ng/ml (p<0.05); Col4—10.14±0.66 ng/ml, 13.87±1.15 ng/ml, 79.56±33.10 ng/ml and 107.12±39.09 ng/ml, respectively. Col3 positively correlated with ALT (r=0.27, p=0.02) and alkaline phosphatase (r=0.28, p=0.04). Col4 correlated with bilirubin (r=0.74), AST (r=0.65), glutamyl transpeptidase (r=0.58), cytokeratin-18 (r=0.56), sedimentation rate of erythrocytes (r=0.61), C-reactive protein (r=0.59), IL –6 (r= 0.51) and leukocytes (r=0.45) (all p<0.001).

Conclusion. Col4 demonstrated greater diagnostic and clinical significance in alcoholic liver disease compared to Col3. The level of Col4 increased by an average of 8 times with the progression of the disease from liver steatosis to cirrhosis, and Col3 — only by 3 times. There were more diverse and stronger associations between Col4 and markers of hepatocellular damage and inflammation than between Col3 and these indicators.

The maximum rise in the levels of both types of collagen found in SAH-LC confirmed the important role of this form of liver disease in the development of fibrosis, and hence in the further decompensation of liver cirrhosis.

Keywords: collagen 3 type, collagen 4 type, fibrosis, alcoholic liver disease, apoptosis, cytokines

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Введение

Ежегодно 2 миллиона человек в мире умирает от хронических заболеваний печени (ХЗП), в структуре которых более четверти занимает алкогольная болезнь печени (АБП) [1, 2]. Около 15–20 лет АБП прогрессирует от простого стеатоза до клинически явной стадии цирроза печени, и ведущим механизмом этого процесса выступает избыточное несбалансированное образование фиброзной рубцовой ткани, замещающей нормальную ткань печени, ремодулируя физиологическую архитектуру органа. Важной клинической задачей является раннее выявление пациентов с выраженным фиброзом и риском его прогрессирования для своевременного лечения, профилактики развития цирроза и рака печени, снижения инвалидности и смертности населения.

Главными клетками, осуществляющими фиброгенез, являются звездчатые клетки (ЗК), которые в норме выполняют функцию перицитов, накапливающих витамин А [3–5]. Под влиянием провоспалительных цитокинов, хемокинов, профиброгенных молекул и факторов роста – TGF- β , PDGF (фактор роста тромбоцитов), секретлируемых купферовскими, эндотелиальными, эпителиальными клетками, тромбоцитами, иммунными клетками, а также под воздействием свободных радикалов, липидных медиаторов, простагландинов, метаболитов этанола – происходит трансформация ЗК в миофибробласты [3, 6, 7]. Миофибробласты (МФБ) характеризуются высокой пролиферативной, секреторной и сократительной активностью. Они синтезируют белки межклеточного матрикса – коллагены разного типа, преимущественно коллаген III, эластин, протеогликаны, гликопротеины, гликозаминогликаны, а также неоангиогенные сигнальные молекулы. Прежде всего нарушается структура пространств Диссе, где накапливаются данные соединения, происходит капилляризация синусоидов, ухудшается питание печеночных клеток, уменьшается их метаболическая и пролиферативная активность. Формируется перипеллюлярный фиброз, образуются соединительнотканые септы, ложные долики, увеличивается объем соединительной ткани, разрастаются новые

сосуды, нарушается нормальная паренхиматозная и сосудистая архитектура печени, приводящая к развитию портальной гипертензии, печеночной недостаточности, канцерогенеза. Кроме того, МФБ в ответ на стимулы – оксид азота, эндотелин, ангиотензин-2 – способны влиять на просвет синусоидов и внутрипеченочную сосудистую резистентность. Меньший вклад в процесс фиброгенеза вносят портальные и костно-мозговые фибробласты. Диагностика фиброза крайне важна для оценки стадии развития ХЗП, обоснования терапии и контроля ее эффективности. Существуют инвазивные и неинвазивные (инструментальные и лабораторные) методы распознавания фиброза при ХЗП. Каждый метод имеет свои преимущества и ограничения. Золотым стандартом диагностики фиброза является пункционная биопсия печени, но высокая стоимость процедуры, существующие риски серьезных жизнеугрожающих осложнений, малый размер получаемой ткани и возможность ошибочной интерпретации гистологической картины и экстраполяции на весь объем печени ограничивают широкое применение данного диагностического метода. Успешно используется ультразвуковая и магниторезонансная эластография, но частое применение ее, например, для оценки эффективности терапии, не всегда доступно в учреждениях практического здравоохранения. Поэтому актуальным остается применение лабораторных методов оценки в крови различных продуктов обмена соединительной ткани [3, 8–19]. Определение уровня коллагенов третьего (Col3) и четвертого типов (Col4) при ХЗП различной этиологии используется исследователями разных стран как для распознавания стадии фиброза, так и для мониторинга результативности применяемой терапии, но требуется дальнейшее накопление информации о клинической значимости продуктов фиброгенеза и фибролиза при данных заболеваниях [3, 4, 8–19].

Целью нашей работы явилось определение клинической и диагностической значимости Col3 и Col4 в сыворотке пациентов с различными формами АБП.

Материалы и методы

Обследовано 98 пациентов АБП: 13 (13,3%) стеатозом печени (СП), 15 (15,3%) – стеатогепатитом (СГ), 56 (57,1%) циррозом печени (ЦП), 14 (14,3%) тяжелым алкогольным гепатитом на фоне цирроза печени (ТАГ-ЦП). Среди обследованных было 59 (60,2%) мужчин и 39 (39,8%) женщин, средний возраст составил $53,48 \pm 11,45$ года. Диагноз устанавливался на основании клинических, лабораторных, анамнестических данных, шкал AUDIT, CAGE, результатов инструментального исследования – абдоминальной сонографии, данных эзофагогастродуоденоскопии. Исключался вирусный, аутоиммунный, метаболический генез поражения печени (неалкогольная жировая болезнь печени, гемохроматоз, болезнь Вильсона-Коновалова) и лекарственный гепатит.

Исключались из исследования пациенты с сопутствующими хроническими заболеваниями внутренних органов (легких, почек, сердца), которые могли повлиять на уровень коллагенов в крови. Определяли содержание в сыворотке крови белки фиброгенеза – коллагена третьего типа (Col3) и коллагена четвертого типа (Col4) методом иммуноферментного анализа (тест-системы “Kit For Collagen Type III (Col3)” и “Kit For Collagen Type IV (Col4)”, “Cloud-Clone Corp”, USA), маркер апоптоза гепатоцитов – фрагменты цитокератина-18 (ФЦК-18) (тест-система “Biotech”, Sweden), цитокины – ИЛ-1 β , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- α (TNF- α) («Вектор-Бест», Россия) на анализаторе “Sunrise” (Швейцария). Контрольную группу составили 12 здоровых лиц.

Таблица 1

Col3, Col4, функциональные печеночные тесты, маркер апоптоза и показатели воспаления при разных формах алкогольной болезни печени (M±m)

Примечания:

* – p<0,05 по сравнению со стеатозом печени
** – p<0,05 по сравнению со стеатогепатитом
*** – p<0,05 по сравнению с циррозом печени

Показатель	Стеатоз печени, n=13 (13,3%)	Стеатогепатит, n=15 (15,3%)	Цирроз печени, n=56 (57,1%)	Тяжелый алкогольный гепатит на фоне цирроза печени, n=14 (14,3%)
Col3, нг/мл	6,52±0,94	12,50±3,18*	20,96±4,93*, **	26,90±3,87*,**
Col4, нг/мл	10,14±0,66	13,87±1,15 *	79,56±33,10*, **	107,12±39,09*, **, ***
АЛТ, Ед/л	29,47±12,50	81,5±36,81*	37,03±20,57*,**	192,42±110,43*, **, ***
АСТ, Ед/л	26,77±3,87	90,6±28,1*	81,51±38,60*	387,53±198,10*, **, ***
Билирубин, мкмоль/л	14,37±3,81	46,8±11,32*	159,61±128,51*, **	366,02±115,58*, **, ***
Щелочная фосфатаза, Ед/л	137,61±20,92	196,30±48,92*	170,4±80,98	314,82±145,39*, **, ***
Гамма-глутамил-транспептидаза, Ед/л	98,36±9,15	276,7±81,2*	211,38±166,84*	893,09±1056,9*,***
Альбумин, г/л	42,84±3,61	39,62±4,80	28,52±5,21*, **	24,94±5,59*, **, ***
Протромбин,%	101,5±3,7	89,6±3,9*	57,43±18,89*, **	51,06±25,78*, **
МНО	1,20±0,14	1,32±0,34	1,61±0,43*,*	1,57±0,61*
Холестерин, ммоль/л	5,17±1,22	4,83±0,76	3,44±1,02*,**	5,54±3,72
Фибриноген, г/л	2,16±0,32	2,47±0,20*	2,79±1,54	3,81±0,8*, **, ***
СРП, мг/л	1,93±1,24	12,30±6,51*	30,07±17,60*,**	53,45±20,35*, **, ***
Лейкоциты, пх10 ⁹ /л	6,27±1,24	7,24±2,11	8,78±3,03*	13,78±4,63*, **, ***
ФЦК-18, Ед/л	191,9±15,8	395,4±83,0*	1198,38±428,50*, **	1576,03±552,54*,**
ИЛ-1β, пг/мл	4,39±0,41	5,55±4,29	5,95±5,07	6,32±3,13
ИЛ-4, пг/мл	4,25±0,31	2,22±0,48*	3,78±2,86	3,78±3,47
ИЛ-6, пг/мл	6,34±3,2	17,84±15,89*	33,48±23,55*,**	38,54±24,53*,**
ИЛ-8, пг/мл	7,93±2,10	14,82±4,01*	32,73±16,31*,**	31,81±18,55*,**
ФНО-α, пг/мл	6,25±0,33	11,6±4,3*	14,33±6,49*	15,23±8,81*

Таблица 2

Коррелятивные связи уровня Col3 с функциональными печеночными тестами

Показатель	Коэффициент корреляции	P
АЛТ	0,27	0,02
Щелочная фосфатаза	0,28	0,04

Уровень Col3 у здоровых лиц составил 6,12±0,73 нг/мл и Col4–9,45±0,32 нг/мл, ФЦК-18–89,5±25,9 Ед/л, ИЛ-1β – 4,85±3,38 пг/мл, ИЛ-4–5,1±2,1 пг/мл, ИЛ-6–1,24±0,68 пг/мл, ИЛ-8–6,75±2,3 пг/мл, ФНО-α – 4,2±1,4 пг/мл.

Статистический анализ выполнялся с помощью программы “Statgraphics plus 5.0”. Результаты представлены как среднее значение показателя и стандартная ошибка среднего. Сравнение уровней

показателей в группах выполняли с использованием непараметрического U-критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Учитывая небольшое количество пациентов в отдельных группах, коррелятивные связи коллагена обоих типов с лабораторными показателями рассчитывались в целом среди всех пациентов с использованием метода Спирмена. Различия считали статистически значимыми при p<0,05.

Результаты

Уровни Col3 и Col4 при всех формах АБП достоверно превышали таковые у здоровых лиц контрольной группы (p<0,05). Уровни Col3 и Col4 возрастали по мере прогрессирования АБП от стеатоза печени до СГ и ЦП, достигая максимальных цифр при ТАГ-ЦП (табл. 1). Содержание Col3 увеличивалось примерно в 3 раза при ЦП и в 4 раза при ТАГ-ЦП по сравнению со СП. Особенно значительной динамика роста отмечалась со стороны Col4, который возрастал в почти в 8 раз при ЦП и в 10 раз при ТАГ-ЦП по сравнению с таковым уровнем при СП. Рост уровней обоих типов коллагенов происходил параллельно с ростом маркеров некроза и апоптоза гепатоцитов, ухудшением показателей синтетической функции печени –

уменьшением уровня альбумина, протромбина, снижением концентрации холестерина; ростом маркеров воспаления – СРП, фибриногена, лейкоцитов, провоспалительных цитокинов – ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО-α. Особенно значительным рост маркеров некроза, апоптоза, воспаления отмечался при ТАГ-ЦП (табл. 1).

Уровень Col3 прямо и слабо коррелировал только с АЛТ и ЩФ (табл. 2). Col4 коррелировал со многими лабораторными тестами: с уровнями аминотрансфераз, ФЦК-18, билирубина и ГГТП, то есть со всеми маркерами паренхиматозного повреждения, а также с маркерами воспаления – СОЭ, СРП, лейкоцитами, ИЛ-6 и негативно коррелировал с холестерином (табл. 3).

Таблица 3
Коррелятивные
связи уровня Col4
с функциональ-
ными печеночными
тестами и маркера-
ми воспаления

Показатель	Коэффициент корреляции	P
Билирубин	0,74	0,0002
АСТ	0,65	0,0001
ГГТП	0,58	0,0007
ФЦК-18	0,56	0,0001
Холестерин	-0,34	0,01
СОЭ	0,61	0,0002
СРП	0,59	0,009
ИЛ-6	0,51	0,0002
Лейкоциты	0,45	0,0005

Обсуждение

Печеночно-клеточное повреждение и воспаление при хронических заболеваниях печени активирует трансдифференцировку звездчатых клеток в миофибробласты, синтезирующие белки внеклеточного матрикса, а фиброгенная среда, в свою очередь, нарушает структуру, регенерацию и функцию паренхиматозных клеток, приводя в конечном итоге к развитию печеночной недостаточности. Мы нашли увеличение уровней Col3 и Col4, отражающих процесс фиброгенеза при АБП, и обнаружили связь данных протеинов с показателями печеночной дисфункции. Col3 является фибриллярным белком интерстициального внеклеточного матрикса, синтезируется миофибробластами, в норме в очень незначительном количестве находится в перисинусоидальных пространствах печени. Col4 относится к нефибриллярным коллагенам, является сетчатым белком мембраноподобной базальной матрицы, поддерживающей поляризованные эпителиальные клетки печени, обеспечивает обмен веществ между синусоидальным кровотоком и гепатоцитами, синтезируется эндотелием, звездчатыми клетками и желчным эпителием. Среди обследованных пациентов достоверный рост обоих типов коллагена отмечался уже при самой ранней форме АБП – при стеатозе печени. Большинство авторов выявляют увеличение Col3 не при стеатозе печени, а при хронических гепатитах и циррозе печени различной этиологии и находят Col3 важным биомаркером продвинутого фиброза печени [10–19]. Thiele M. et al. (2021) сопоставляли выраженность гистологических изменений у пациентов АБП и отметили минимальное влияние стеатоза на коллагенообразование, а преимущественное влияние лобулярного воспаления и баллонной дистрофии на рост интерстициальной соединительной ткани в печени [16]. Ряд исследователей нашли увеличение Col3 при декомпенсированном ЦП с признаками острой хронической печеночной недостаточности (ОХПН) [17, 18]. Praktiknjo M. et al. (2018) установили пороговый уровень Col3 в печеночной вене – 20 нг/мл, выше которого ухудшался прогноз у пациентов ЦП в отношении выживаемости [18]. Авторы предлагают использовать Col3 для прогноза развития ОХПН и смертности. Среди обследованных нами пациентов максимальный подъем уровня Col3 выявлялся при ТАГ-ЦП, который, как известно, чаще всего ассоциируется с развитием ОХПН. Таким образом, наши данные об увеличении уровня Col3

по мере развития фиброза печени от F1 до F4 совпадают с данными других исследователей.

Мнения о диагностической роли Col4 противоречивые. Мы выявили более значительный рост концентрации данного коллагена по сравнению с ростом Col3 при прогрессировании АБП. Этот результат согласовывается с выводом Hirayama S. et al. (1996) [19]. Другие исследователи считают, что Col4 в меньшей степени, чем Col3, отражает интенсивность фиброгенеза при ХЗП [11, 16]. Так, Nielsen M. J. et al. (2015) сообщают о клинической значимости Col3 в качестве единственного маркера фиброза F \geq 2 и F \geq 3 при хроническом гепатите С, в то время как Col4, маркер ремоделирования базальной мембраны, возрастает только при поздних стадиях фиброза F \geq 3 [11]. Авторы делают вывод о том, что развитие структуры, подобной базальной мембране, происходит позже, чем ремоделирование интерстициального матрикса. Доказательством диагностического значения Col4 при АБП в нашем исследовании являлся факт наличия многообразных, достаточно тесных и высоко достоверных корреляционных связей Col4 с показателями дисфункции печени и маркерами воспаления. Тесная связь Col4 с маркерами некроза – с билирубином (r=0,74, p=0,0002), с АСТ (r=0,65, p=0,0001) и ГГТП (p=0,56, p=0,0007), была обусловлена тем, что гибель гепатоцитов сопровождается освобождением DAMP-структур, которые активизируют функцию купферовских, эндотелиальных синусоидальных клеток, резидентных и рекрутированных в печень лимфоцитов, взаимодействуя с Toll-рецепторами и иницируя синтез этими клетками цитокинов, хемокинов, свободных форм кислорода и факторов роста [20]. Существовала прямая связь между уровнями Col4 и ФЦК-18 (r=0,56, p=0,0001), так как апоптозные тельца при фагоцитозе макрофагами печени также приводят к усилению синтеза провоспалительных пептидных медиаторов и факторов роста. В ответ на воспалительное окружение происходит пролиферация миофибробластов, активируется их профиброгенная, проангиогенная функции, приводящие к ремоделированию печеночной ткани. Кроме того, именно Col4 составляет основу базальных мембран, через которые осуществляется двунаправленный поток питательных веществ и метаболитов, и при утолщении базальных мембран ухудшается трофика гепатоцитов, усиливается повреждение клеток. О взаимовлиянии

коллагенообразования и воспаления свидетельствовали позитивные коррелятивные связи между Col4 и маркерами воспаления – СРП ($r=0,59$,

$p=0,009$), СОЭ ($r=0,61$, $p=0,0002$), числом лейкоцитов ($r=0,45$, $p=0,0005$) и уровнем ИЛ-6 ($r=0,51$, $p=0,0002$).

Заключение

Большее диагностическое и клиническое значение при алкогольной болезни печени продемонстрировал Col4 по сравнению с Col3. Уровень Col4 возрастал в среднем в 8 раз при прогрессировании заболевания от стеатоза печени до цирроза печени, а Col3 – только в 3 раза. Выявлялись более многообразные и более тесные связи между Col4 и маркерами печеночно-клеточного повреждения и воспаления, чем между Col3 и данными показателями.

Обнаруженный максимальный подъем уровней обоих типов коллагена при тяжелом алкогольном гепатите подтверждал важную роль данной формы болезни печени в развитии фиброза, а значит и в дальнейшей декомпенсации цирроза печени.

Определение обоих типов коллагена при алкогольной болезни печени может быть полезным как для выявления пациентов с угрозой прогрессирования фиброза, так и для обоснования антифиброзной терапии и мониторинга ее эффективности.

Финансовая поддержка

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по темам № 0218–2019–0077 и № FMEN-2022–0009 (№ г.р. 122031100064–4), на оборудовании Центра коллективного пользования Федерального исследовательского центра Карельский научный центр Российской академии наук

Литература | References

- Asrani S.K., Devarbavi H., Eaton J., Kamath P.S. Burden of liver diseases in the world. *J Hepatol.* 2019;70:151–71. doi: 10.1016/j.jhep.2018.09.014.
- Griswold M. G., Fullman N., Hawley C., Arian N., Zimsen S.R.M., Tymeson H.D. et al. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet.* 2018;392:1015–1035. doi: 10.1016/S0140–6736(18)31310–2.
- Karsdal M. A., Daniels S. J., Nielsen S. H., Bager C., Rasmussen D.G.K., Loomba R. et al. Collagen biology and non-invasive biomarkers of liver fibrosis. *Liver International.* 2020;40:736–750. doi: 10.1111/liv.14390.
- Karsdal M. A., Hjuler S. T., Luo Y., Rasmussen D.G.K., Nielsen M. J., Nielsen S. H. Assessment of liver fibrosis progression and regression by a serological collagen turnover profile. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2019; 316: G25–G31. doi: 10.1152/ajpgi.00158.2018.
- Delgado M.E., Cárdenas B.I., Farran N., Fernandez M. Metabolic Reprogramming of Liver Fibrosis. *Cells.* 2021; 10 (3604). doi: 10.3390/cells10123604.
- Friedman S.L., Pinzani M. Hepatic fibrosis 2022: Unmet needs and a blueprint for the future. *Hepatology.* 2022; 75(2):473–488. doi: 10.1002/hep.32285.
- Gressner A.M., Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF- β as major players and therapeutic targets. *J. Cell. Mol. Med.* 2006; 10 (1): 76–99. doi: 10.1111/j.1582–4934.2006.tb00292.x.
- Vinnitskaya E.V., Drozdov V.N., Yunusova Yu.M., Varvanina G.G., Shaposhnikova N.A. Petrakov A.V. et al. Diagnostic significance of serum markers of fibrosis in chronic liver diseases. *Therapeutic archive.* 2013; 85(2):27–31.
Винницкая Е. В., Дроздов В. Н., Юнусова Ю. М., Варванина Г. Г., Шапошникова Н. А. Петраков А. В. и др. Диагностическая значимость сывороточных маркеров фиброза при хронических болезнях печени. *Терапевтический архив.* 2013; 85(2):27–31.
- Ivanov A.S., Tarasenko E. V., Garmasch I. V., et al. Markers of endothelial dysfunction, cytokine status, collagen COL1A1_1 gene on the development of liver fibrosis in alcohol abusers. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal).* 2019; 63(3): 55–63 (in Russ.) doi: 10.25557/0031–2991 2019 03 55–63.
Иванов А. С., Тарасенко Е. В., Гармаш И. В., Мяндина Г. И., Аришева О. С., Желудова Е. М. и др. Влияние маркеров эндотелиальной дисфункции, цитокинового статуса, гена коллагена COL1A1_1 на развитие фиброза печени у пациентов, злоупотребляющих алкоголем. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2019; 63(3): 55–63. DOI: 10.25557/0031–2991.2019.03.55–63.
- Madsen B.S., Thiele M., Detlefsen S., Kjærgaard M., Møller L.S., Trebicka J. et al. PRO-C3 and ADAPT algorithm accurately identify patients with advanced fibrosis due to alcohol-related liver disease. *Alimentary pharmacology and therapeutics.* 2021 54(5): 699–708. doi: 10.1111/apt.16513.
- Nielsen M.J., Kazankov K., Leeming D.J., Karsdal M. A., Krag A., Barrera F. et al. Markers of Collagen Remodeling Detect Clinically Significant Fibrosis in Chronic Hepatitis C Patients. *PLoS ONE.* 2015; 10 (9): e0137302. doi: 10.1371/journal.pone.0137302.
- Daniels S.J., Leeming D.J., Eslam M., Hashem A.M., Nielsen M. J. Krag A. et al. ADAPT: an algorithm incorporating PRO-C3 accurately identifies patients with NAFLD and advanced fibrosis. *Hepatology.* 2019;69:1075–1086. doi: 10.1002/hep.30163.
- Luo Y.I., Oseini A., Gagnon R., Charles E.D., Sidik K., Vincent R. et al. An evaluation of the collagen fragments related to fibrogenesis and fibrolysis in nonalcoholic steatohepatitis. *Sci Rep.* 2018;8:12414. doi: 10.1038/s41598–018–30457-y.
- Boyle M., Tiniakos D., Schattenberg J.M., Ratziu V., Bugianessi E. Petta S. et al. Performance of the PRO-C3 collagen neo-epitope biomarker in non-alcoholic fat-

- ty liver disease. *JHEP Reports*. 2019;1(3):188–198. doi: 10.1016/j.jhepr.2019.06.004.
15. Bril F., Leeming D. J., Karsdal M. A., Kalavalapalli S., Barb D., Lai J. et al. Use of Plasma Fragments of Propeptides of Type III, V, and VI Procollagen for the Detection of Liver Fibrosis in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2019;42:1348–1351 doi: 10.2337/dc18–2578.
 16. Thiele M., Johansen S., Gudmann N. S., Madsen B., Kjærgaard M., Nielsen M. J. et al. Progressive alcohol-related liver fibrosis is characterised by imbalanced collagen formation and degradation. *Alimentary pharmacology and therapeutics*. 2021; 54 (8):1070–1080. doi: 10.1111/apt.16567.
 17. Kerbert A.J.C., Gupta S., Alabsawy E., Dobler I., Lønsmann I., Hall A. Biomarkers of extracellular matrix formation are associated with acute-on-chronic liver failure. *JHEP Reports*. 2021. 3(6):100355. doi: 10.1016/j.jhepr.2021.100355.
 18. Praktijnjo M., Lehmann J., Nielsen M. J., Schierwagen R., Uschner F. E., Meyer C et al. Acute decompensation boosts hepatic collagen type III deposition and deteriorates experimental and human cirrhosis. *Hepatology communications*. 2018; 2 (2): 211–222. doi: 10.1002/hep4.1135.
 19. Hirayama C., Suzuki H., Takada A., Fujisawa K., Tanikawa K., Igarashi S. Serum type IV collagen in various liver diseases in comparison with serum 7S collagen, laminin, and type III procollagen peptide. *J Gastroenterol*. 1996; 31: 242–248. doi: 10.1007/BF02389524.
 20. Roehlen N., Crouchet E., Baumert T. F. Liver Fibrosis: Mechanistic Concepts and Therapeutic Perspectives. *Cells*. 2020; 9 (4), 875. doi: 10.3390/cells9040875.