

УДК 616.36–002–036.12+616.36–004

**ФАКТОР НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ И ЕГО РАСТВОРИМЫЕ РЕЦЕПТОРЫ II ТИПА ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ГЕПАТИТАХ И ЦИРРОЗАХ ПЕЧЕНИ**Левитан Б. Н., Астахин А. В., Левитан Г. Б.  
Астраханский государственный медицинский университет**TUMOR NECROSIS FACTOR AND ITS SOLUBLE RECEPTORS II TYPE IN CHRONIC HEPATITIS AND LIVER CIRRHOSIS**Levitan B. N., Astakhin A. V., Levitan G. B.  
Astrakhan State Medical University**Левитан Болеслав Наумович**  
Levitan Boleslav N.  
bolev@mail.ru**Левитан Болеслав Наумович** — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой факультетской терапии**Астахин Александр Владимирович** — д.м.н., профессор, кафедры факультетской терапии**Левитан Григорий Болеславович** — к.м.н., соискатель кафедры факультетской терапии

Levitan Boleslav N. — MD, professor, the head of department of faculty therapy

Astakhin Aleksandr V. — MD, professor of department of faculty therapy

Levitan Gregory B. — MD, applicant of department of faculty therapy

**Резюме****Цель исследования** — изучить клиническое и диагностическое значение изменения концентрации фактора некроза опухолей (TNF) и растворимых рецепторов фактора некроза опухоли II типа (sTNF-RII) при хронических гепатитах (ХГ) и циррозах печени (ЦП).**Материалы и методы.** У 65 больных хроническим гепатитом (ХГ), 64 больных циррозом печени (ЦП) и 25 здоровых доноров исследовали концентрацию фактора некроза опухолей (TNF) и растворимых рецепторов фактора некроза опухолей II типа (sTNF-RII) методом иммуноферментного анализа.**Результаты.** Средний уровень TNF при ХГ и ЦП был достоверно ( $p < 0,05$ ) выше, по сравнению с донорами (соответственно,  $84,12 \pm 10,92$  пкг/мл и  $138,14 \pm 19,98$  пкг/мл против  $23,54 \pm 6,02$  пкг/мл). Концентрация sTNF-RII при ХГ и ЦП была значительно ( $p < 0,05$ ) увеличена по сравнению с нормой (при ХГ-  $7,33 \pm 0,32$  пкг/мл, при ЦП —  $13,15 \pm 2,19$  пкг/мл и в контрольной группе —  $3,54 \pm 0,39$  пкг/мл). Концентрации TNF и sTNF-RII при вирусных ХГ и ЦП были значительно ( $p < 0,05$ ) выше по сравнению с алкогольными и нормой. Повышение TNF и sTNF-RII ассоциируется с активностью воспаления и классом тяжести по шкале Чайлд-Пью.**Ключевые слова:** хронический гепатит, цирроз печени, фактор некроза опухолей, растворимые рецепторы фактора некроза опухолей II типа

Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2017; 138 (2): 62–66

**Summary****The Aim** was to investigate of clinical and diagnostic value of change of concentration of tumor necrosis factor (TNF) and also soluble receptors II type of tumor necrosis factor (sTNF-RII) in chronic hepatitis (CH) and liver cirrhosis (LC).**Material and methods.** 65 CH and 64 LC patients and 25 healthy volunteers were included in the investigation. TNF and sTNF-RII concentrations were assessed by the ELISA method.**Results.** The average TNF level in CH and LC was authentically ( $p < 0,05$ ) increased in comparison with the donors ( $84.12 \pm 10.92$  IU/ml and  $138.14 \pm 19.98$  IU/ml cons  $23.54 \pm 6.02$  IU/ml). The sTNF-RII concentration in CH and LC was significantly ( $p < 0,05$ ) increased in comparison with the norm (in CH  $7.33 \pm 0.32$  IU/ml, in LC  $13.15 \pm 2.19$  IU/ml and in control  $3.54 \pm 0.39$  IU/ml). The TNF and sTNF-RII levels were significantly ( $p < 0,05$ ) increased in viral CH and LC in comparison with the alcoholic etiology and norm. The TNF and sTNF-RII increasing associated with the activity of inflammation and severity of LC class on the Child-Pugh score.**Keywords:** chronic hepatitis, liver cirrhosis, tumor necrosis factor, soluble receptors of tumor necrosis factor II type

Experimental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya 2017; 138 (2): 62–66

## Введение

Значительный научный и практический интерес к проблеме хронических диффузных заболеваний печени (ХДЗП) не ослабевает в связи с их широкой распространенностью, тяжестью течения и исходов, неясностью многих патогенетических механизмов [1–4]. Течение и прогноз хронических гепатитов (ХГ) и циррозов печени (ЦП) в значительной степени определяются состоянием иммунного статуса организма, причем на всех этапах иммунного ответа активное участие в нем принимают цитокины, которые осуществляют регуляцию межклеточных и межсистемных взаимодействий [5–8].

Одним из ведущих провоспалительных цитокинов, имеющих важное патогенетическое значение при ХДЗП, является фактор некроза опухолей (TNF) [5,9–12]. TNF влияет на метаболизм гепатоцитов, запускает и пролонгирует механизмы воспаления и эндотоксиновой агрессии, участвует в формировании неспецифического и специфического иммунного ответа на вирусы, регуляции жирового обмена в печени, процессах ее регенерации, фиброза и цирроза [5,9,10]. Вследствие этого, возникающие при ХГ и ЦП нарушения состояния TNF, а также дисбаланс во взаимодействии цитокина и факторов, участвующих в регуляции его биологической активности, может лежать в основе механизмов повреждения печени, оказывать влияние на течение и исход заболевания [5,9,11].

TNF проявляет свое действие, связываясь с высокоаффинными мембранными рецепторами на поверхности клетки — мишенями, что необходимо для последующих его биологических эффектов [6,13]. Растворимый рецептор, связывающийся с цитокином, является отщепленным ферментом

внеклеточным доменом мембранного рецептора, который сохраняет высокую аффинность в отношении своих лигандов и способен нейтрализовать TNF, препятствуя его доступу к интактным мембранным рецепторам [6].

В настоящее время идентифицированы два типа растворимых рецепторов TNF: рецептор I типа с молекулярной массой 55 кДа и рецептор II типа с молекулярной массой 75 кДа [6,13]. Рецептор I типа экспрессируется почти всеми типами клеток и опосредует, главным образом, воспалительные и цитотоксические эффекты TNF, а рецептор II типа экспрессируется преимущественно клетками крови, лимфоидными и эпителиальными клетками и, прежде всего, участвует в реализации пролиферативных процессов [6,13].

Синтез растворимых рецепторов протекает более интенсивно и длительно, чем самого цитокина, что обуславливает более полную и быструю реализацию биологического эффекта TNF в очаге поражения. Растворимые рецепторы TNF могут выполнять функции конкурирующих антагонистов, а также участвовать в транспорте, доставке цитокина в очаг поражения и осуществлять его клиренс [13,14].

При этом, если исследованию роли TNF в развитии и прогрессировании ХДЗП посвящено значительное количество публикаций, то значение его растворимых рецепторов, регулирующих биологическую активность цитокина при ХГ и ЦП, особенно sTNF-RII мало изучено [15,16].

Целью настоящего исследования явилось изучение клинического и диагностического значения изменения концентрации sTNF-RII и TNF при ХГ и ЦП.

## Материал и методы исследования

Для решения поставленных задач на базе гастроэнтерологического отделения ГБУЗ АО Александро-Мариинская областная клиническая больница было проведено комплексное обследование 65 больных ХГ и 64 — ЦП вирусной, алкогольной и смешанной (вирус+алкоголь) этиологии и 25 здоровых доноров.

Для уточнения этиологии заболевания у всех пациентов проводилось определение маркеров вирусов гепатита «В» и «С» методом иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной

реакции, учитывалось наличие в анамнезе злоупотребления алкоголем, присутствие внешних и системных признаков алкогольной болезни.

С помощью метода ИФА всем больным проводилось определение концентрации TNF и sTNF-RII в сыворотке крови.

При оценке полученных результатов проводилась статистическая обработка материала общепринятыми методами вариационной статистики с использованием пакета «Statistica 6.0».

## Результаты и обсуждение

Результаты исследования показали, что наиболее значительное нарастание концентрации sTNF-RII, по сравнению с нормой, наблюдалось при ЦП (табл. 1). Средние значения растворимых рецепторов при ХГ были также достоверно выше нормы, но их количество было существенно ниже, чем при ЦП. Причем, если при ХГ достоверное повышение концентрации sTNF-RII имелось у 68 % обследованных, то при ЦП — у 96 %. При этом содержание TNF в сыворотке крови больных ХГ

и ЦП в среднем также было значительно выше нормы.

Следовательно, ингибирующий потенциал sTNF-RII при ЦП значительно выше, чем при ХГ. Причем, хотя согласно полученным данным в группах больных ХГ и ЦП отсутствовали прямые корреляционные связи между значениями sTNF-RII и TNF, повышение цитокина, как правило, сопровождалось увеличением количества его растворимых рецепторов. Так, у больных ХГ с достоверно

Таблица 1.

Концентрация TNF и его растворимых рецепторов II типа при ХГ и ЦП

Исследуемые группы	Концентрация sTNF-RII (пкг/мл)	Концентрация TNF (пкг/мл)
ХГ	7,33±0,32* **	84,12±10,92* **
ЦП	13,15±2,19*	138,14±19,98*
Контроль	3,54 ±0,39	23,54±6,02

**Примечание:**

\*p&lt;0,05 по сравнению с контролем;

\*\*p&lt;0,05 по сравнению с ЦП

Таблица 2.

Концентрация TNF и его растворимых рецепторов II типа в зависимости от этиологии ХГ и ЦП

Исследуемые группы	Концентрация sTNF-RII (пкг/мл)	Концентрация TNF (пкг/мл)
ХГ	Вирусный	8,57±2,09*
	Смешанный	6,3±1,23*
	Алкогольный	4,87±1,21* **
ЦП	Вирусный	19,0±3,9*
	Смешанный	14,76±2,28*
	Алкогольный	7,64±2,4***
Контроль	3,54±0,39	23,54 ±6,02

**Примечание:**

\*p&lt;0,05 по сравнению с контролем; \*\*p&lt;0,05 по сравнению с вирусными ХГ; \*\*\*p&lt;0,05 по сравнению с вирусными ЦП

Таблица 3.

Изменения концентрации TNF и его растворимых рецепторов II типа в зависимости от активности ХГ и ЦП

Исследуемые группы	Концентрация sTNF-RII (пкг/мл)	Концентрация ФНО (пкг/мл)
ХГ	Высокой активности	12,82±2,87*
	Умеренной активности	6,15±0,93* **
ЦП	Высокой активности	17,45±2,55*
	Умеренной активности	9,22±2,78* **
Контроль	3,54±0,39	23,54±6,02

**Примечание:**

\*p&lt;0,05 по сравнению с контролем;

\*\*p&lt;0,05 между больными высокой и умеренной активности

Таблица 4.

Концентрация TNF и его растворимых рецепторов II типа у больных ЦП в зависимости от класса тяжести по Child-Pugh

Исследуемые группы	Концентрация sTNF-RII (пкг/мл)	Концентрация TNF (пкг/мл)
ЦП класс «А»	7,56±1,96* ***	101,14±12,49* ***
ЦП класс «В»	13,6±1,67* ** ***	129,63±20,85* ***
ЦП класс «С»	27,16±5,7*	200,21±38,76*
Контроль	3,54±0,39	23,54± 6,02

**Примечание:**

\*p&lt;0,05 по сравнению с контролем; \*\*p&lt;0,05 по сравнению с ЦП класса А;

\*\*\* p&lt;0,05 по сравнению с ЦП класса С

высоким уровнем sTNF-RII средние значения TNF были почти в 2 раза выше, чем в группе с нормальной или незначительно повышенной их концентрацией. Аналогичная закономерность наблюдалась и при ЦП, причем различия между показателями TNF были еще более значительными.

Таким образом, несмотря на то, что в группе больных ЦП величина TNF в среднем была достоверно выше, чем при ХГ, более значительное повышение концентрации sTNF-RII может способствовать уменьшению биологической активности цитокина за счет ингибиторного эффекта рецепторов.

Достоверное повышение средних значений концентрации sTNF-RII в различной степени наблюдается при всех этиологических вариантах ХГ и ЦП (табл. 2).

При вирусной этиологии ХГ и ЦП содержание sTNF-RII в сыворотке крови было достоверно выше, чем при алкогольной. Значения sTNF-RII при смешанной этиологии ХГ и ЦП приближались

к таковым у больных с вирусными поражениями, причем у лиц с ЦП вирусной и смешанной этиологии достоверные различия отсутствовали (p>0,05).

Согласно полученным данным, концентрация TNF также была увеличена при всех этиологических формах ХГ, но у больных вирусной природы она также была значительно выше, чем смешанной и алкогольной. При ЦП наблюдалась аналогичная тенденция, но отсутствовали достоверные различия между всеми этиологическими группами.

Следовательно, механизм увеличения концентрации sTNF-RII при хронических вирусных и вирусно-алкогольных гепатитах и циррозах печени, по-видимому, в первую очередь объясняется ответной реакцией на повышение продукции TNF, выброс которого опосредован прямым стимулирующим эффектом гепатотропных вирусов на синтез данного цитокина макрофагами печени и гепатоцитами. Хотя, вероятно, существуют и иные причины повышения концентрации рецепторов, на что указывает довольно значительный процент больных ХГ алкогольной

этиологии с высокими значениями sTNF-RII. Установленные закономерности могут быть использованы при проведении дифференциальной диагностики этиологии заболевания. Выявление значительного подъема концентрации рецепторов у лиц с алкогольной болезнью печени может свидетельствовать о присоединении вирусного компонента и развитии заболевания смешанной этиологии.

Значения sTNF-RII нарастают по мере увеличения активности ХГ, что соответствовало повышению концентрации TNF. Причем при высокой активности заболевания изучаемые показатели были почти в два раза выше, чем при умеренной. У больных ЦП высокой активности также обнаружено значительное увеличение содержания цитокина и его растворимых рецепторов в сыворотке крови, по сравнению с группой ЦП умеренной активности и здоровыми лицами (табл. 3).

Полученные результаты свидетельствуют, что исследование концентрации TNF и sTNF-RII в сыворотке крови может быть использовано в качестве дополнительного критерия оценки активности патологического процесса как у больных ХГ, так и на стадии сформировавшегося ЦП. Причем при ЦП они могут более адекватно отражать активность иммунновоспалительного синдрома, чем оценка значений трансаминаз.

Тяжесть поражения печени у больных ЦП в первую очередь обусловлена нарушением ее

функционального состояния, приводящего к развитию декомпенсации заболевания. В связи с этим исследовалась взаимосвязь показателей sTNF-RII и TNF со степенью функциональной недостаточности гепатоцитов, для чего больные ЦП были разделены, согласно классификации Child-Pugh, на три класса тяжести.

Было показано, что содержание TNF и sTNF-RII в сыворотке крови увеличивалось вместе с классом тяжести ЦП, причем наиболее значимое повышение наблюдалось у больных декомпенсированным ЦП класса «С» по Child-Pugh, у которых концентрация TNF и sTNF-RII многократно превышала норму, тогда как при ЦП класса «В» — лишь в несколько раз (табл. 4). Обращало на себя внимание также то, что средние значения TNF и sTNF-RII даже при ЦП класса «А» были выше, чем в группе ХГ.

Выявленные закономерности нарастания концентрации TNF и sTNF-RII по мере прогрессирования ХДЗП от стадии ХГ до формирования декомпенсированного ЦП класса «С» имеют не только теоретическое, но и важное практическое значение. Изучение данных показателей, в комплексе с традиционными методами исследования, может быть использовано в практической гепатологии для оценки возможного прогрессирования заболевания, ранней диагностики трансформации ХГ в ЦП, развития декомпенсации цирроза.

## Заключение

У 68 % больных ХГ и 96 % — ЦП концентрация в сыворотке крови sTNF-RII достоверно превышает показатели у здоровых лиц. Максимальное нарастание средних значений sTNF-RII наблюдается при ЦП, в меньшей степени, но также достоверно они повышены при ХГ. Концентрация sTNF-RII при вирусных ХГ и ЦП в среднем была достоверно выше, чем при алкогольных, а при смешанных (вирус+алкоголь) приближалась к показателям у больных вирусной этиологии. Концентрация TNF при вирусных ХГ была существенно выше, чем при алкогольных и смешанных поражениях, а при ЦП значительно повышена, независимо от этиологии заболевания.

Значения sTNF-RII нарастают по мере повышения активности ХГ и ЦП, что соответствовало росту концентрации TNF. Наиболее высокие показатели TNF и sTNF-RII наблюдались при

декомпенсированном ЦП класса «С» по Child-Pugh. При этом средние значения TNF и sTNF-RII даже при ЦП класса «А» были достоверно выше, чем в группе ХГ.

Таким образом, исследование концентрации sTNF-RII в сыворотке крови больных ХГ и ЦП может быть использовано в качестве дополнительного критерия при установлении этиологии заболевания, оценке активности патологического процесса в печени. Определение при этом концентрации TNF существенно повышает диагностическую ценность анализа. Обнаружение тенденции к увеличению уровня sTNF-RII при ХДЗП может свидетельствовать о прогрессировании заболевания: у больных ХГ о трансформации его в цирроз, а у больных ЦП — о нарастании класса тяжести по Child-Pugh.

## Литература

1. Козлова И. В., Пахомова А. Л. Практическая гастроэнтерология: руководство для врачей в 2 ч. — М.: Дрофа, 2010, 495 с.
2. Комаров Ф. И., Осадчук М. А., Осадчук А. М. Практическая гастроэнтерология. — М.: МИА, 2010, 480 с.
3. Стрижаков А. Н., Герадзе В. Н. Современное состояние проблемы цирроза печени. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии, 2009, Т. 19, № 1, С. 87–88
4. Bell B. P., Manos M. M., Zaman A. et al. The epidemiology of newly diagnosed chronic liver disease in gastroenterology practices in the United States: results from population-based surveillance. *Am. J. Gastroenterol.*, 2008, V. 103, P. 2727–2736.
5. Ивашкин В. Т., Шульпекова О. Ю., Лукина Е. А. Классические провоспалительные цитокины и их биологические эффекты при заболеваниях печени. Молекулярная медицина, 2003, № 3, С. 34–43.
6. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины /СПб: Фолиант, 2008. -552с.
7. Albillos A, Lario M, Alvarez-Mon M. Cirrhosis-associated immune dysfunction: distinctive features and clinical relevance. *J. Hepatol.*, 2014, 61(6), P. 1385–96.

8. *Tilg H., Kaser A., Mosher A. R.* How to modulate inflammatory cytokines in liver diseases. *Liver Int.*, 2006, № 9, P. 1029–39.
9. *Ягода А. В., Гейвандова Н. И., Хубиев Ш. М., Цупрунова Д. С.* Фактор некроза опухоли при хронических вирусных гепатитах: патогенетическая роль, пути фармакологической коррекции. *Иммунология*, 2000, № 2, С. 36–38.
10. *Астахин А. В., Левитан Б. Н., Афанасьев С. С. и соавт.* Уровень фактора некроза опухоли-а и интерлейкина-4 в сыворотке крови больных хроническим гепатитом // *Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунобиологии*, 2004, № 2, С. 46–50
11. *Булатова И. А., Третьякова Ю. И., Щёктова А. П. и соавт.* Влияние фактора некроза опухоли альфа и полиморфизма его гена (RS 1800629) на тяжесть и прогрессирование хронического гепатита и язвенного колита. // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*, 2016, № 3 (127), С. 9–14
12. *Mourtzikou A., Alepaki M., Stamouli M. et al.* Evaluation of serum levels of IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-2 and IL-4 in patients with chronic hepatitis. *Inmunologia*, 2014, V 33, № 2, С. 41–50.
13. *Diez-Ruiz A., Tilz G. P., Zangerle R.* Soluble receptors for tumour necrosis factor in clinical laboratory diagnosis. *Eur. J. Haematol.*, 1995, V 54, № 1, P. 8–14.
14. *Esteve E., Botas P., Delgado E.* Soluble TNF-alpha receptor 2 produced by alternative splicing is paradoxically associated with markers of liver injury. *Clin. Immunol.*, 2007, V 123, № 1, P. 89–94.
15. *Левитан Г. Б., Астахин А. В., Ларина Н. Н., Левитан Б. Н.* Растворимые рецепторы фактора некроза опухолей типа II и этиология хронических гепатитов и циррозов печени. *Астраханский медицинский журнал*, 2010, Т. 5, № 3, С. 41–44.
16. *Shawky A. F., Nehal H. E., Nagwa A. M., Osama M. A.* Diagnostic Value of Serum Level of Soluble Tumor Necrosis Factor Receptor IIa in Egyptian Patients With Chronic Hepatitis C Virus Infection and Hepatocellular Carcinoma. *Hepat. Mon.* 2014,14 (9): e19346.