

УДК: 616.36-002+616.34+616-008.6:577.175.14:547.96

Роль IL-8 и LBP в патогенезе синдрома избыточного бактериального роста у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом

И.Л. Кляритская, Е.В. Семенихина

The role of IL-8 and LBP in the pathogenesis of bacterial overgrowth syndrome in patients with nonalcoholic steatohepatitis

I.L. Klyaritskaya, E.V. Semenikhina

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, Симферополь

Ключевые слова: неалкогольный стеатогепатит, синдром избыточного бактериального роста, интерлейкин 8, липополисахаридсвязывающий белок.

Термин «стеатогепатит» в настоящее время все чаще употребляется для описания весьма гетерогенной группы патологических изменений печени, характеризующихся воспалительной инфильтрацией на фоне жировой дистрофии гепатоцитов. Основным этиопатогенетическим фактором развития жирового гепатоза и стеатогепатита остается алкоголь, роль которого прослеживается у 65% пациентов. Вместе с тем, почти четверть века назад Ludwig впервые описал изменения печени, аналогичные картине алкогольной болезни печени (АБП), присутствовавшие у лиц не употреблявших алкоголь в гепатотоксических дозах (> 40 г чистого этанола в сутки). Со второй половины 90-х годов минувшего столетия неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) – диагноз, прочно занявший место в ряду основных причин поражения печени и позволивший существенно уменьшить долю «криптогенных» гепатитов (1).

Таким образом, неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) – хроническое диффузное заболевание пе-

чени, морфологическим эквивалентом которого служит стеатоз, некро-воспалительные изменения ткани печени с формированием последовательных стадий фиброза печени.

Одной из актуальных проблем внутренней медицины остаются вопросы своевременной диагностики хронического диффузного заболевания печени. Эту группу заболеваний отличает скудная, зачастую неспецифическая симптоматика, в связи с чем пациенты длительно, иногда годами, не обращаются за медицинской помощью (2).

Как известно, существуют общеизвестные факторы развития жировой болезни печени, но в последние годы уделяют внимание еще одному – это синдрому избыточному бактериальному росту (СИБР).

Синдром избыточного бактериального роста (СИБР) – патологическое состояние, в основе кото-

*¹295006, Россия, Республика Крым,
г. Симферополь, бульвар Ленина 5/7,
e-mail office@csmu.strace.net*

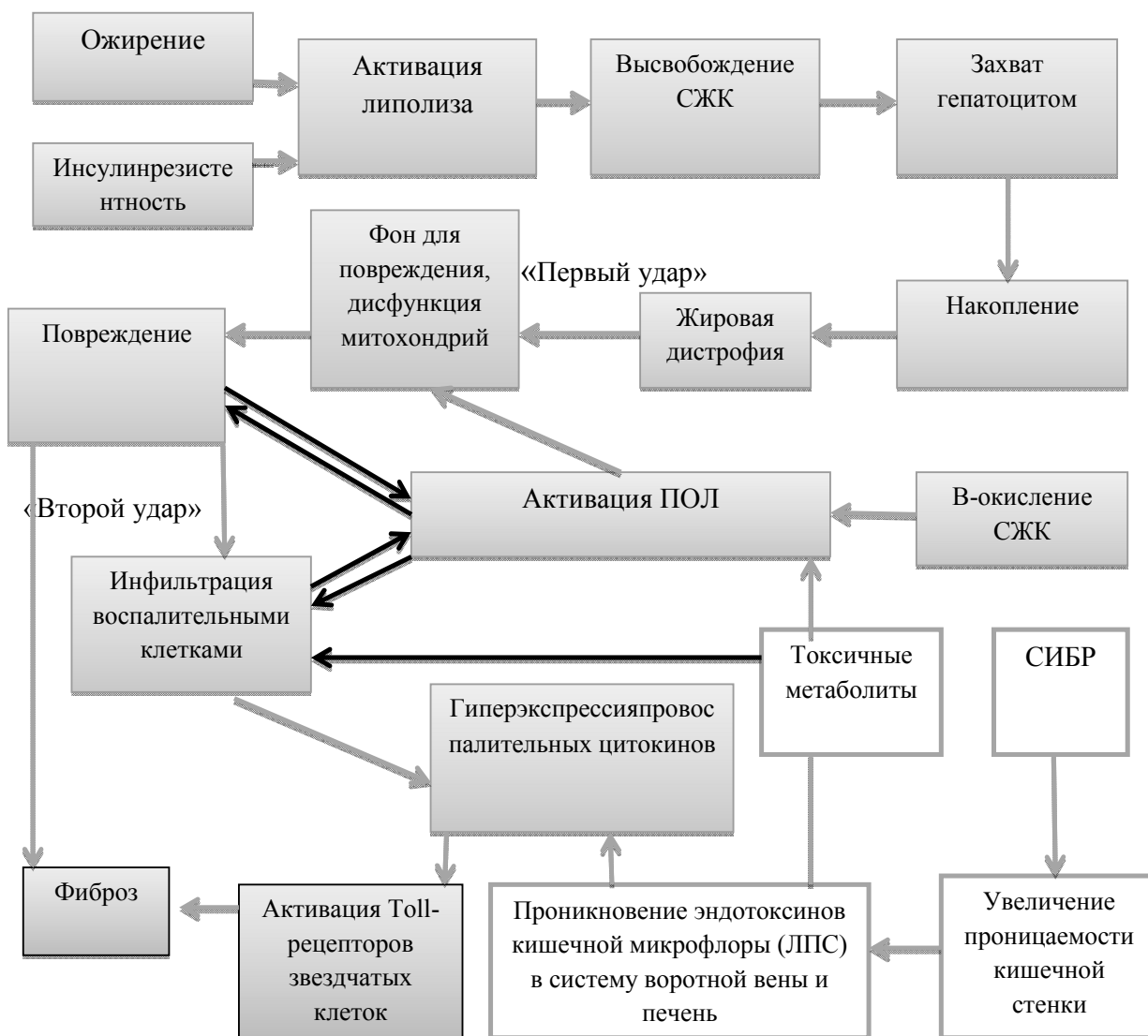


Рис. 1. Патогенез НАСГ. Представлена последовательность событий согласно теории «двух толчков», а также потенциальное влияние на развитие и персистенцию НАСГ липополисахарида грам-отрицательной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, особенно при бактериальной контаминации тонкой кишки (СИБР).

рого лежит повышенное заселение тонкой кишки, преимущественно фекальной микрофлорой, сопровождающееся хронической диареей и мальабсорбцией, в первую очередь жиров и витаминов В12.

На данный момент есть экспериментальные и клинические исследования, которые показывают наличие связи между синдромом избыточного бактериального роста (СИБР) и неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ). Повреждение печени и фиброз могут быть связаны с воздействием бактериальных продуктов кишечного происхождения, и прежде всего, с эндотоксином, включая липополисахарид.

Таким образом, попытаемся рассмотреть более подробно патогенез этих заболеваний. Как уже всем известно, существующая модель патогенеза неалкогольного стеатогепатита – теория «двух

толчков» – объединяет известные факторы риска стеатогепатита. При нарастании ожирения увеличивается поступление в печень свободных жирных кислот (СЖК) и развивается стеатоз печени – теория «первичного толчка» (3,4,5). Во время этого процесса происходят реакции окисления свободных жирных кислот и образуются продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) и реактивные формы кислорода (РФК) – окислительный стресс – теория «второго толчка». Теория «второго толчка» несет ответственность за появление стеатогепатита, в связи с чем имеет более важное клиническое и прогностическое значение. Непосредственными факторами вызывающими воспаление, считаются нарушенные функции внутриклеточных структур (митохондрий), а факторами, вызывающими ги-



Рис. 2. Патогенетическая взаимосвязь СИБР и трансформации стеатоза печени в НАСГ (или процесса поддержания активности НАСГ).

бель гепатоцитов и развитие фиброза – перекисное окисление липидов (ПОЛ), секреция цитокинов. Механизм трансформации стеатоза в стеатогепатит включает ряд патогенетических звеньев, которые являются идентичными, как при неалкогольном, так и алкогольном поражениях печени. В процессе накопления свободных жирных кислот (СЖК) гепатоцит становится более уязвимым и чувствительным к токсическим воздействиям. Свободные жирные кислоты, которые поступают из кишечника или синтезируются в печени, участвуют в образовании триглицеридов, которые в последующем включаются в липопротеиды очень низкой плотности (ЛПОНП). Часть свободных жирных кислот транспортируется в митохондрии, где участвует в в-окислении. Происходит образование восстановительных коферментов НАД и ФАД, которые участвуют в переносе электронов на цитохромы митохондриальной дыхательной цепи. В результате

функции последней происходит фосфорилирование АДФ с образованием АТФ. Определенная часть электронов участвует в синтезе реактивных форм кислорода (РФК). Реактивные формы кислорода обладают прямой цитотоксичностью и могут провоцировать гибель гепатоцитов и способствовать секреции цитокинов мононуклеарными фагоцитами, потенцирующими указанные патологические процессы. Различные токсины, включая кишечную эндотоксемию, в реакциях окисления индуцируют продукцию и накопление в печеночной клетке свободных радикалов и других токсических метаболитов. В процессе оксидативного стресса происходит чрезмерная мобилизация свободных ионов железа из ферритина, что в свою очередь увеличивает содержание гидроксильных радикалов. Свободные радикалы запускают реакции перекисного окисления липидов и секрецию цитокинов, включая фактор некроза опухоли – б (TNF- б), интерлейкин-6

(IL-6) и интерлейкин-8 (IL-8). Эти патологические реакции приводят к некрозу гепатоцитов и развитию воспалительной клеточной инфильтрации. Продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ), некроз гепатоцитов, TNF- β , интерлейкин-6 (IL-6) и интерлейкин-8 (IL-8) являются активаторами стеллатных клеток Ito, которые ответственны за выработку профибротических и антифибротических факторов. Их стимуляция сопровождается избыточной продукцией соединительной ткани с развитием фиброза, а при длительном персистировании процесса – циррозом печени (3,4).

На сегодняшний день в эксперименте доказана взаимосвязь между воспалением и повреждением в печени, фиброгенезом и бактериальным эндотоксином (Рис. 1.).

При попадании большого количества эндотоксинов бактериальных клеток через систему портального кровотока в печень эндотоксины активируют Toll-рецепторы гепатоцитов, что сопровождается экспрессией провоспалительных цитокинов. Реализация провоспалительного каскада цитокинов с паракринной, а при персистировании процесса – и аутокринной активацией звездчатых клеток и индукцией фиброгенеза способны привести к развитию фиброза и цирроза печени. Выдвигалась гипотеза и о том, что оксидативный стресс, как один из ключевых механизмов развития НАСГ, может быть вызван в т. ч. и высокими концентрациями эндотоксина, ввиду нарушения проницаемости кишечного барьера, а не только образованием продуктов ПОЛ и реактивных форм кислорода.

Первичным, в развитии эндотоксемии является последовательность событий, включающих избыточный бактериальный рост в тонкой кишке, нарушение проницаемости стенки кишки для эндотоксинов и бактерий (Рис. 1.). В данном случае значительную роль играет именно компонент стенки грамм-отрицательных микроорганизмов, который способен при определенных условиях проникать в кровотоки (липополисахарид грамм-отрицательной микрофлоры – ЛПС). В норме ЛПС проникает через барьер лишь в следовых количествах, не вызывая никаких значительных последствий. Однако есть данные, что пациенты с НАЖБП (НАСГ как форма соответственно) имеют повышенную проницаемость кишечной стенки, что создает необходимые условия для транслокации эндотоксина через кишечную стенку, попадание его в воротную вену и далее непосредственно в паренхиму печени. По мнению Y. Pan возможной причиной нарушения целостности кишечной стенки и, следовательно, увеличения ее проницаемости является повреждение плотных белковых эпителиоцитов тонкой кишки. Китайскими учеными на опытной модели крыс был выявлен еще один предрасполагающий фактор: при НАСГ наличие СИБР замедляет перистальтику кишечника и тем самым провоцирует развитие бактериальной транслокации и усиливает эндотоксемию (6).

Таким образом, неалкогольный стеатогепатит

может прогрессировать в цирроз печени, приводить к печеночно-клеточной недостаточности и даже к гепатоцеллюлярной карциноме. Популяционные исследования позволяют предположить, что около 80% криптогенных циррозов печени являются исходами неалкогольного стеатогепатита.

Одной из возможных причин, способствующих развитию воспалительного компонента при неалкогольном стеатогепатите, является эндотоксемия, связанная с дисбиозом кишечника. Считается, что возникновение эндотоксемии при стеатогепатите характеризуется повышенной выработкой провоспалительных цитокинов (TNF- β , IL-6, IL-8) и повышенной экспрессией рецепторов к провоспалительным цитокинам (3,7,8).

Цель работы

Выявить распространенность синдрома избыточного бактериального роста (СИБР) у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ), изменение показателей LBP и IL-8 у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ) при наличии синдрома избыточного бактериального роста (СИБР).

Материал и методы

Были исследованы 90 пациентов с неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ): из них у 30 пациентов выявили синдром избыточного бактериального роста (СИБР). Таким образом пациенты были разделены на 3 группы:

Группа 1 – 60 человек с неалкогольным стеатогепатитом

Группа 2 – 30 человек с неалкогольным стеатогепатитом и синдромом избыточного бактериального роста

Группа 3 – 30 человек контрольная группа

В качестве контрольной группы было отобрано 30 человек (из них 15 мужчин и 15 женщин), в возрасте от 20 до 69 лет (средний возраст $48,8 \pm 2,02$ лет). У пациентов данной группы отсутствовали жалобы на заболевания печени, в пределах нормы были биохимические анализы крови, при объективном обследовании отсутствовали признаки гепатомегалии и признаки жировой инфильтрации при ультразвуковом исследовании.

Кроме того, у всех пациентов тщательно собиран анамнез, измеряли рост и вес для расчета индекса массы тела, проводили общеклинические и биохимические исследования крови, характеризующие функциональное состояние печени, ультразвуковое исследование органов брюшной полости, определение LBP и IL-8 в сыворотке крови, а также проводили Фибро Тест для определения фиброза печени и степени некро-воспалительных процессов. Для определения синдрома избыточного роста использовали D-ксилозный водородный дыхательный тест.

Уровень липополисахарид-связывающего

белка (Human LBP) в крови определялся иммуноферментным методом, коммерческим набором «Hycult biotechnology b.v.». В плазме здоровых людей уровень LBP составляет около 10 мкг/мл, а во время острой фазы наблюдается приблизительно 10-ти кратное увеличение концентрации LBP.

Уровень IL-8 определяли в сыворотке крови больных иммуноферментным методом с использованием тест систем «Вектор-Бест». У здоровых лиц IL-8/NAP-1 обнаруживался в концентрации 0-64 пг/мл со средним значением 36 пг/мл.

Результаты исследования

В ходе проведенного исследования выявили, что СИБР встречается примерно у 30% пациентов с НАСГ. Выявлена высокая распространенность в возрасте от 40 до 60 лет среди представителей женского пола. Количество женщин превышает количество мужчин (18 против 12). У большинства пациентов этой группы замечены значительные повышения уровней липидного и углеводного обменов. Также, значительно преобладают пациенты с умеренной и высокой степенью активности, с более выраженной степенью фиброза печени и степени некро-воспалительных процессов. При развитии синдрома избыточного бактериального роста у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом, течение неалкогольного стеатогепатита протекает наиболее в тяжелой форме, т. е. синдром избыточного бактериального роста усугубляет течение неалкогольного стеатогепатита.

При исследовании LBP выявили, что у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом при наличии синдрома избыточного бактериального роста показатели сывороточного LBP повышены. Среднее значение сывороточного LBP ($77,6 \pm 2,38$), что значительно превышает эти показатели в контрольной группе ($4,43 \pm 0,37$). Чем более выраженное течение НАСГ, тем выявляется значительное повышение уровни сывороточных LBP в сыворотке крови, и соответственно, чем менее выраженное течение НАСГ, тем выявляются более низкие значения сывороточных LBP.

При исследовании уровня ИЛ-8 было выявлено повышение этих показателей у преобладающего числа пациентов. Среднее значение в группе НАСГ+СИБР составило ($99,3 \pm 3,7$ пг/мл), что значительно превышает показатели в контрольной группе ($37,8 \pm 1,91$ пг/мл). Также как и при определении LBP выявили, что чем более выраженный процесс НАСГ, тем выявляется значительное повышение уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови, и соответственно, чем менее выраженный процесс НАСГ, тем выявляются более низкие значения цитокинов.

В ходе проведенного исследования была обнаружена положительная корреляция между показателями сывороточного LBP и уровнем АЛТ ($r=0,61$;

$p<0,01$); LBP и АСТ ($r=0,48$; $p<0,01$); ИЛ-8 и АЛТ ($r=0,62$; $p<0,01$); ИЛ-8 и АСТ ($r=0,51$; $p<0,01$); что может говорить о взаимоотношении этих показателей, отражающих степень активности стеатогепатита. Также об этом может свидетельствовать и наличие связи между степенью гистологической активности и сывороточными уровнями ИЛ-8 ($r=0,56$; $p<0,05$) и LBP ($r=0,58$; $p<0,05$); и степенью фиброза печени ИЛ-8 ($r=0,68$; $p<0,05$) и LBP ($r=0,64$; $p<0,05$).

Количество провоспалительных цитокинов значительно повышается в сыворотке крови по мере прогрессирования фиброза, увеличения степени гистологической активности у пациентов с НАСГ и СИБР. Отмечается положительная корреляционная взаимосвязь между уровнями ИЛ-8 и LBP и уровнями трансаминаз. При исследовании уровня гистологической активности и определении фиброза печени отмечается также положительная корреляционная взаимосвязь между уровнями провоспалительных цитокинов и уровнем LBP в сыворотке крови. При измерении LBP и уровнями фиброза печени ($r=0,64$; $p<0,05$), при ИЛ-8 ($r=0,68$; $p<0,05$). При измерении степени гистологической активности и LBP ($r=0,58$; $p<0,05$); при ИЛ-8 ($r=0,56$; $p<0,05$).

Для определения тактики ведения таких пациентов все больные были разделены на две группы. Первая группа (15 человек) получала базисную терапию лечения НАСГ: урсодезоксихолевая кислота 10-15 мг/кг массы тела, ловастатин 10-20 мг 1 р/д вечером во время еды, метформин 1500 мг/сут, витамин Е 800 МЕ/сут.

Во вторую группу вошли (15 человек), которые получали комбинированную терапию лечения НАСГ и СИБР: к базисной терапии НАСГ добавили метронидазол 500 мг 2 р/сут и пробиотик – энтерожермина по 1 фл. 3р.д.

Контроль лечения проводили вышеуказанными препаратами в течение 12 недель. Эффективность лечения контролировали по динамике основных клинико-лабораторных показателей. Лабораторные показатели, включая ИЛ-8 и LBP, а также показатели Фибро Теста определяли на 2, 4 и 12 неделях. Уровень цитокинов измеряли на 2, 4 и 12 неделях от начала лечения. Но на 2 и 4 неделях уровни провоспалительных цитокинов и уровни LBP существенно достоверно не изменялись. Поэтому, наибольший интерес представляет измерение провоспалительных цитокинов и уровни LBP на 12 недели.

На 12 неделе было замечено достоверное снижение показателей провоспалительных цитокинов и уровней LBP на фоне комбинированной терапии.

Таким образом, анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что у пациентов с НАСГ и СИБР наиболее эффективной является схема лечения базисными препаратами в сочетании с метронидазолом и пробиотиком – энтерожермина. На фоне этой комбинации наиболее эффективно снижаются показатели трансаминаз, уровни провоспалительных цитокинов и уровни LBP в сыворотке крови.

Литература

1. А.О. Буевров *Алкогольный и неалкогольный стеатогепатит: общность и различия.*
2. И.А. Кляритская, Т.А. Цаяк, Е.И. Григоренко, П.Н. Радзивил, Т.В. Нагорная – *Патогенетическое лечение неалкогольного стеатогепатита* – КТЖ №1 (16) 2011 г., стр-91-95
3. А.О. Буевров *Окислительный стресс и его роль в повреждении печени* // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* – 2002. – №4. – С. 21-25
4. А.О. Буевров, М.В. Маевская *Некоторые патогенетические и клинические вопросы неалкогольного стеатогепатита* // *Клинические перспективы в гастроэнтерологии, гепатологии,* – 2003. – №3. – С. 2-7.
5. В.Т. Ивашкин, Ю.О. Шульпекова *Неалкогольный стеатогепатит* // *Болезни органов пищеварения.* – 2000. – Т.2, №2. – С. 41-45.
6. Ю.А. Кучерявый, к.м.н., Е.А. Маевская, д.м.н., М.А. Ахтаева, Е.А. Краснякова *Неалкогольный стеатогепатит и кишечная микрофлора: есть ли потенциал пребиотических препаратов в лечении?*
7. Ю.М. Степанов, д.м.н., проф.; А.Ю. Филипова к.м.н.; кафедра гастроэнтерологии и терапии ФГО Днепропетровский государственный медицинская академия. *Стеатоз печени и неалкогольный стеатогепатит: современный взгляд на патогенез, диагностику и лечение.*

Роль IL-8 и LBP в патогенезе синдрома избыточного бактериального роста у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом

И.Л. Кляритская, Е.В. Семенихина

В статье представлены данные исследования, целью которого была выявить клиничко-патогенетические взаимосвязи между неалкогольной жировой болезнью печени и синдромом избыточного бактериального роста. В результате проведенного исследования выявили, что синдром избыточного бактериального роста встречается примерно у 30% пациентов с неалкогольным стеатогепатитом. При развитии синдрома избыточного бактериального роста у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом, течение неалкогольного стеатогепатита протекает наиболее в тяжелой форме, т. е. синдром избыточного бактериального роста усугубляет течение неалкогольного стеатогепатита. Также было замечено, что чем более выраженное течение НАСГ, тем выявляется значительное повышение уровней сывороточных LBP и IL-8 в сыворотке крови, и соответственно, чем менее выраженное течение НАСГ, тем выявляются более низкие значения сывороточных LBP и IL-8. Количество провоспалительных цитокинов значительно повышается в сыворотке крови по мере прогрессирования фиброза, увеличения степени гистологической активности у пациентов с НАСГ и СИБР. Отмечается положительная корреляционная взаимосвязь между уровнями IL-8 и LBP и уровнями трансаминаз. При исследовании уровня гистологической активности и определении фиброза печени отмечается также положительная корреляционная взаимосвязь между уровнями провоспалительных цитокинов и уровнем LBP в сыворотке крови. Для определения тактики ведения таких пациентов все больные были разделены на две группы. Первая группа (15 человек) получала базисную терапию лечения НАСГ: урсодезоксихолевая кислота 10-15 мг/кг массы тела, ловастатин 10-20 мг 1 р/д вечером во время еды, метформин 1500 мг/сут, витамин Е 800 МЕ/сут. Во вторую группу вошли (15 человек), которые получали комбинированную терапию лечения НАСГ и СИБР: к базисной терапии НАСГ добавили метронидазол 500 мг 2 р/сут и пробиотик – энтерожермина по 1 фл. Зр.д. Контроль лечения проводили вышеуказанными препаратами в течение 12 недель. Таким образом, анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что у пациентов с НАСГ и СИБР наиболее эффективной является схема лечения базисными препаратами в сочетании с метронидазолом и пробиотиком – энтерожермина. На фоне этой комбинации наиболее эффективно снижаются показатели трансаминаз, уровни провоспалительных цитокинов и урони LBP в сыворотке крови.

The role of IL-8 and LBP in the pathogenesis of bacterial overgrowth syndrome in patients with nonalcoholic steatohepatitis

И.Л. Klyaritskaya, E.V. Semenikhina

The article presents data from a study whose purpose was to identify clinical and pathogenetic relationship between nonalcoholic fatty liver disease and bacterial overgrowth

syndrome. The study found that bacterial overgrowth syndrome occurs in approximately 30% of patients with non-alcoholic steatohepatitis. With the development of bacterial overgrowth syndrome in patients with non-alcoholic steatohepatitis, NASH occurs during the most severe form, Bacterial overgrowth syndrome exacerbates the non-alcoholic steatohepatitis. It was also observed that the more pronounced during NASH fact revealed a significant increase in serum LBP and IL-8 in serum, and accordingly, the less pronounced for NASH, the detected values lower serum LBP and IL-8. Number of proinflammatory cytokines significantly increased in the serum with the progression of fibrosis, increasing the degree of histological activity in patients with NASH and ARIS. The positive correlation relationship between the levels of IL-8 and LBP and levels of transaminases. In the study of the level of histological activity and the determination of liver fibrosis also noted a positive correlation relationship between the levels of proinflammatory cytokines and the level of LBP in serum. To determine the tactics of these patients, all patients were divided into two groups. The first group (15 people) received basic therapy treatment of NASH: ursodeoxycholic acid 10-15 mg / kg body weight, lovastatin 10-20 mg 1 p / d during the evening meal, metformin 1500 mg / day, vitamin E 800 IU / day. In the second group (15 people) who received combination therapy treatment of NASH and ARIS: basic therapy for NASH added metronidazole 500 mg 2 p / day and a probiotic - enterozhermina 1 fl. 3r.d. Control treatment were above drugs for 12 weeks. Thus, by analyzing the data obtained it can be concluded that in patients with NASH and ARIS is most effective regimen DMARDs in combination with metronidazole and probiotic - enterozhermina. Against the background of this combination most effectively reduced transaminase levels of proinflammatory cytokines and damage LBP in serum.