

## ИЗУЧЕНИЕ УРОВНЯ АЛЬФА-1-ДЕФЕНЗИНА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ ДИФФУЗНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПЕЧЕНИ

Прищепенко В.А., Юпатова З.Г.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра пропедевтики внутренних болезней, г. Витебск*

**Ключевые слова:** альфа-1-дефензин, DEFA1, цирроз печени, хронический гепатит.

**Резюме:** в представленной статье изучен уровень DEFA1 у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени и произведена оценка его взаимосвязи с клинико-лабораторными показателями.

**Resume:** in this article the level of DEFA1 in patients with chronic diffuse liver diseases was studied and its relationship with clinical and laboratory parameters was assessed.

**Актуальность.** В основе развития хронических диффузных заболеваний печени лежит нарушение механизмов иммунорегуляции. Важнейшими звеньями системы иммунитета, участвующими в этом процессе, являются цитокины и факторы неспецифической резистентности организма. Альфа-1-дефензин (DEFA1), выступает в роли одного из компонентов неспецифической резистентности организма.

Дефензины рассматриваются в качестве эндогенных антимикробных пептидов, участвующих в неспецифическом ответе при попадании в организм человека вирусов, бактерий и грибов. Дефензины имеют 3 подкласса: альфа-, бета-, и гамма-дефензины [1]. Человеческие дефензины нейтрофилов (альфа-дефензины) относятся к семейству катионных трисульфидсодержащих микробицидных белков. Альфа-1-Дефензин (DEFA1) является одним из антимикробных пептидов, относящихся к высоко гомологичным человеческим нейтрофильным пептидам (HNP). Они обнаруживаются в макрофагах, В и Т-лимфоцитах, незрелых дендритных клетках моноцитарного происхождения, моноцитах, эпителиоцитах, незначительно синтезируются клетками шейки матки, плаценты. Кроме того, альфа-дефензины синтезируются клетками Панета, играя тем самым важнейшую роль в регуляции количественного и качественного состава микробиоты кишечника [2].

Роль DEFA1 мало изучена при хронических заболеваниях печени. Rie Ibusuki и соавторы изучали роль DEFA1 в развитии алкоголь-индуцированного повреждения печени, развития фиброза печени и неалкогольного стеатогепатита. Авторами было показано, что повышенные уровни DEFA1 у мышей ведут к развитию фиброза печени, путем активации звездчатых клеток печени и клеток Купфера. Клетки Купфера под влиянием альфа-1-дефензина начинают выделять провоспалительные цитокины IL-1, IL-6, IL-8, фактор некроза опухолей альфа (TNF- $\alpha$ ), что ведет к развитию и поддержанию воспаления в печени [3 - 4].

Aceti A. и соавторы изучали уровень альфа-дефензинов у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С и установили его повышение у этой группы пациентов по сравнению с здоровыми лицами и пациентами с вирусным гепатитом В. При этом, уровень DEFA коррелировал со степенью фиброза печени. Авторы

предполагают, что уровень DEFA можно использовать в качестве маркера фиброза печени [5].

Таким образом, DEFA1 играет некоторую регуляторную роль в развитии фиброза печени. Однако, этот вопрос требует дальнейшего изучения.

**Цель:** изучить уровень DEFA1 у пациентов с хроническими диффузными заболеваниями печени и оценить их взаимосвязь с клинико-лабораторными показателями.

**Задачи:** 1. Обследовать пациентов с хроническим гепатитом и циррозом печени. 2. Изучить у данных пациентов уровни DEFA1. 3. Провести анализ выявленных значений и оценить связь с клинико-лабораторными показателями.

**Материал и методы исследования.** Определение уровня DEFA1 проводилось у 65 пациентов с хроническими заболеваниями печени, находившихся на стационарном лечении в гастроэнтерологическом отделении УЗ «Витебский областной клинический специализированный центр». Из них 25 пациентов имело диагноз – Хронический гепатит (средний возраст  $52,1 \pm 12,5$ ; 15 мужчин, 10 женщин) и 40 - Цирроз печени (средний возраст  $56,6 \pm 10,6$ ; 22 мужчин, 19 женщин, класс тяжести по Чайлд-Пью: А=6, В= 13, С=21). Диагноз устанавливался на основании клиническо-лабораторного обследования согласно действующим Клиническим протоколам «Диагностика и лечение пациентов с заболеваниями органов пищеварения» [6]. Вирусная этиология заболевания являлась критерием исключения из данного исследования. В контрольную группу вошли 15 практически здоровых человек (средний возраст  $52,7 \pm 3,89$  лет; 8 мужчин, 7 женщин).

Перед проведением лечебных мероприятий, натощак проводился забор 1,5 мл сыворотки крови в пробирки типа «Эшпендорф».

Альфа-1-дефензин определялся с помощью набора Human DEFA1 EllisaKit компании FineTest, основанный на энзим-связанном методе твердофазного ИФА.

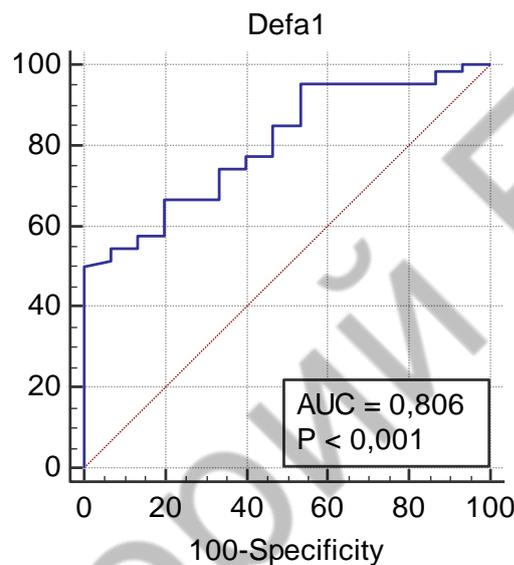
Результаты обрабатывались с помощью пакетов программ «Statistica» (Version 10, StatSoftInc., США, лицензия №СТАФ999К347156W). ROC-анализ производился при помощи программы MedCalc. Поскольку изучаемые показатели имели распределение отличное от нормального ( $p$  для критерия Шапиро-Уилка и Лиллиефорса во всех перечисленных группах  $<0,05$ ) достоверность различий оценивалась с использованием непараметрических методов статистики (критерий Манна-Уитни). Различия признавались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Данные представляли в виде: Медиана (Me); нижний квартиль (LQ) – верхний квартиль (UQ).

Исследование проведено в соответствии с этическими принципами проведения научных медицинских исследований с участием человека и одобрено Комитетом по этике УО «Витебский государственный медицинский университет». Исследование проводилось при поддержке Белорусского Республиканского Фонда Фундаментальных исследований.

**Результаты исследования и обсуждение.** Уровень DEFA1 у пациентов с хроническим гепатитом (514; 254,6 – 725,0; рис.1) и циррозом печени класса тяжести А, В, С по Чайлд-Пью (354,3; 214,8 – 456,8; рис. 2) достоверно выше, чем в контрольной группе (206,2; 130,4 – 276,6;  $p < 0,001$ ). Уровень DEFA1 в группах хронического гепатита и цирроза печени достоверно не различаются.

Была установлена корреляция между уровнем DEFA1 и активностью щелочной фосфатазы ( $CC = 0,3$ ;  $R^2 = 9\%$ ;  $p < 0,05$ ; модель – linear). Также были выявлены зависимости уровня DEFA1 со стадией порто-системной энцефалопатии ( $CC = 0,32$ ;  $R^2 = 10\%$ ;  $p < 0,05$ ; модель – exponential) у пациентов с декомпенсированным циррозом печени.

Проведение ROC анализа показало, что с чувствительностью 50% и специфичностью 100% при уровне DEFA1 более 354,8 пг/мл можно подтвердить наличие диффузного заболевания печени (площадь под ROC-кривой,  $AUC = 0,806$ ; 95% ДИ: 0,703 – 0,885;  $p < 0,001$ ; рис. 5).



**Рис. 5** – ROC-анализ уровня DEFA1 у пациентов с диффузными заболеваниями печени

Уровни DEFA1 изучались у пациентов с алкогольными и неалкогольными стеатогепатитами, фиброзом и циррозом печени. Авторами были выявлены повышенные уровни альфа-1-дефензина в этих группах пациентов по сравнению с практически здоровыми лицами [3 - 4]. Повышенные уровни альфа-дефензинов наблюдались у пациентов с вирусными гепатитами С и В [5, 7]. Нами также установлено повышение уровня DEFA1 у пациентов с хроническим гепатитом и циррозом печени. Показано, что у пациентов с вирусным гепатитом С антигенная и токсическая стимуляция приводит, приводит к выделению моноцитами провоспалительных цитокинов –  $TNF-\alpha$ ,  $IL-1\alpha$ ,  $IL-1\beta$ ,  $IL-6$ . Эти цитокины запускают продукцию белков острой фазы воспаления, таких как компоненты системы комплемента, пентраксин и дефензины, направленных на выведение вирусных антигенов [7].

Для хронического алкогольного гепатита характерна нейтрофильная инфильтрация паренхимы печени [8, 9]. Повышение уровня альфа-дефензинов, выделяемых нейтрофилами, может косвенно свидетельствовать об их активации и выделению различных протеаз. В то же время повышение активности протеаз ведет к повреждению печеночных клеток [10].

**Выводы:**

1. Уровень DEFA1 у пациентов с хроническим гепатитом и циррозом печени класса тяжести А, В и С по Чайлд-Пью достоверно выше, чем в контрольной группе ( $p < 0,001$ ). Уровень DEFA1 в группах хронического гепатита и цирроза печени достоверно не различаются.

2. Установлена корреляция между уровнем DEFA1 у пациентов с хроническими заболеваниями печени и активностью щелочной фосфатазы ( $CC = 0,3$ ;  $p < 0,05$ ). У пациентов с хроническим гепатитом и циррозом печени класса тяжести А, В и С по Чайлд-Пью установлена ассоциация между уровнями IL-13 и DEFA1 ( $CC = 0,52$ ;  $p < 0,0001$ ).

3. Проведение ROC анализа показало, что с чувствительностью 50% и специфичностью 100% при уровне DEFA1 более 354,8 пг/мл можно подтвердить наличие диффузного заболевания печени (площадь под ROC-кривой,  $AUC = 0,806$ ; 95% ДИ: 0,703 – 0,885;  $p < 0,001$ ).

### Литература

1. Skarnes RC, Watson DW. Characterization of leukin: an antibacterial factor from leucocytes active against gram-positive pathogens. *J Exp Med.* 1956;104(6):829-845.
2. Salzman NH, Hung K, Haribhai D, et al. Enteric defensins are essential regulators of intestinal microbial ecology. *Nat Immunol.* 2010;11(1):76-83. doi:10.1038/ni.1825.
3. Ibusuki R, Uto H, Oda K, et al. Human neutrophil peptide-1 promotes alcohol-induced hepatic fibrosis and hepatocyte apoptosis. *PLoS ONE* 12(4):e0174913. doi:10.1371/journal.pone.0174913.
4. Ibusuki R, Uto H, Arima S, et al. Transgenic expression of human neutrophil peptide-1 enhances hepatic fibrosis in mice fed a choline-deficient, L-amino acid-defined diet. *Liver Int.* 2013;33(10):1549-56. doi:10.1111/liv.12203.
5. Aceti A, Mangoni ML, Pasquazzi C, et al. Alpha-defensin increase in peripheral blood mononuclear cells from patients with hepatitis C virus chronic infection. *J Viral Hepat.* 2006;13(12):821-7. doi:10.1111/j.1365-2893.2006.00762.
6. Клинический протокол «Диагностика и лечение пациентов с заболеваниями органов пищеварения». Утверждено постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 21.07.2016 № 90.
7. Alexander W. Tarr, Richard A. Urbanowicz and Jonathan K. Ball The Role of Humoral Innate Immunity in Hepatitis C Virus. *Infection. Viruses* 2014; 1-27. doi:10.3390/v4010001
8. Xu R, Huang H, Zhang Z et al. The role of neutrophils in the development of liver diseases. *Cell-Mol Immunol.* 2014; 11(3):224-31.
9. Jaeschke H. Neutrophil-mediated tissue injury in alcoholic hepatitis. *Alcohol.* 2002; 27(1):23-7.
10. Bautista AP. Neutrophilic infiltration in alcoholic hepatitis. *Alcohol.* 2002; 27(1):17-21.