



УО «Гродненский государственный медицинский университет»

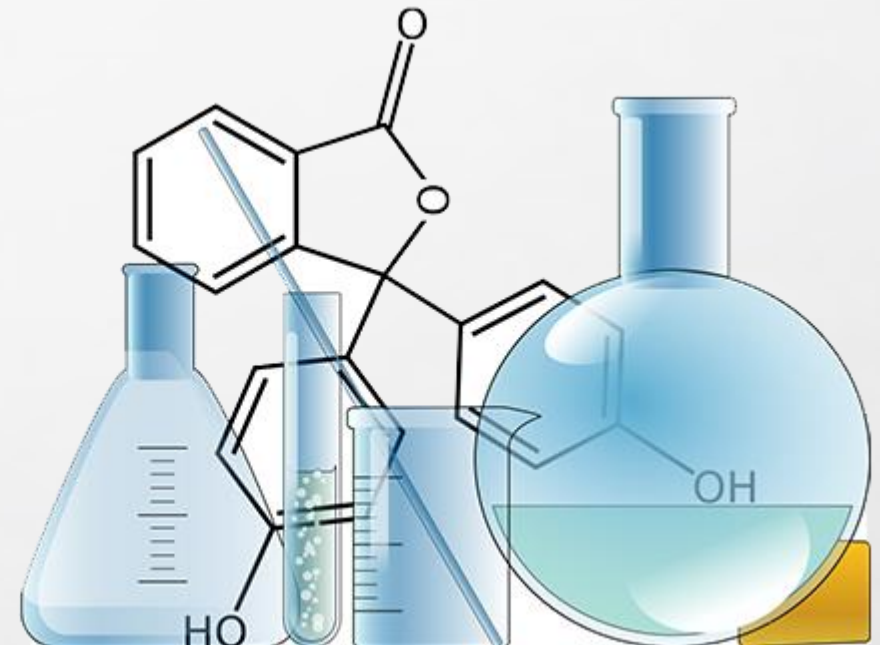
Кафедра биологической химии

Научный руководитель: Лелевич В. В.

## Влияние алкоголя на иммунитет

Подготовили студенты 2 курса  
педиатрического факультета  
Бернацкая А.Д., Кусмарцева А.С.

Гродно, 2022



## Влияние алкоголя на врожденный иммунитет

Этанол, в зависимости от дозы и продолжительности приёма, обладает способностью изменять функции моноцитов, незрелых клеток врожденного иммунитета, циркулирующих в крови до тех пор, пока они не мигрируют в ткани.

**Моноциты:** экспрессируют Toll-подобный рецептор (TLR-4), ответственный за распознавание токсина (липополисахарида, ЛПС) на поверхности грамотрицательных бактерий. При связывании с ним моноциты активируются, созревают в макрофаги и мигрируют в ткани, где они реагируют на патоген, секретируя различные факторы и (или) медиаторы, а также призывая дополнительные иммунные клетки посредством продукции хемокинов и представления пептидов патогенов Т-клеткам для их активации.

Как следствие-продукция провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкины — IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 и фактор некроза опухоли TNF $\alpha$ .



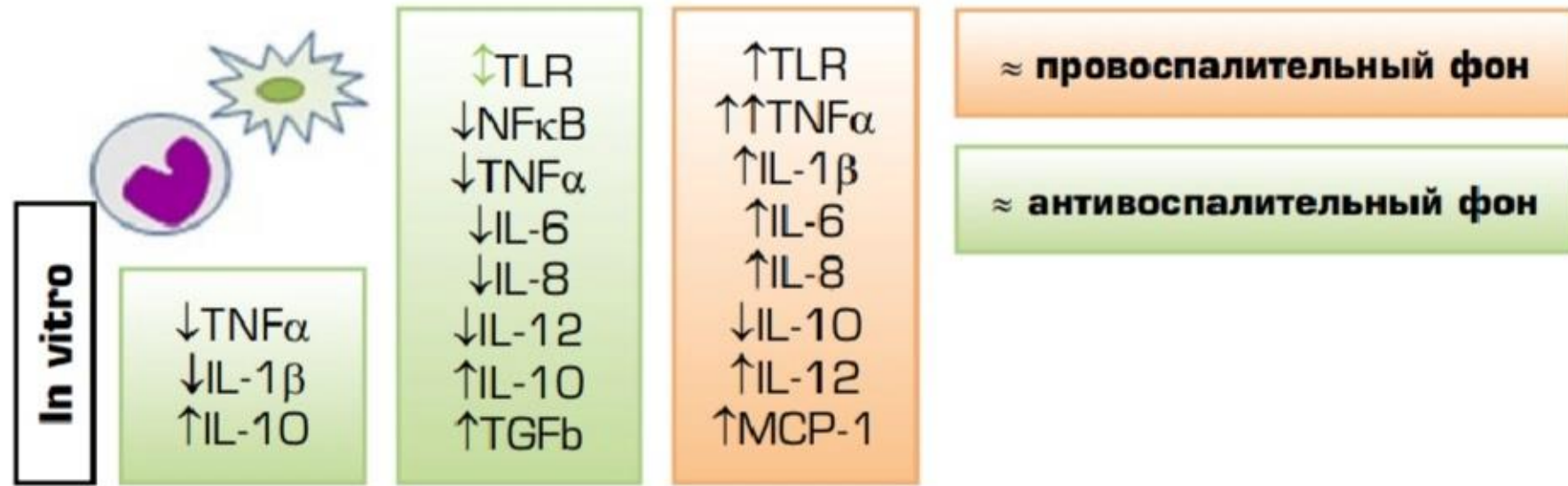
При проведении опытов *in vitro* было установлено, что:

- инкубация моноцитов, полученных от здоровых доноров с этанолом (25 ммоль) в течение 24 ч. ингибировала ЛПС-опосредованную ядерную транслокацию NFκB (фактор транскрипции, контролирующей экспрессию генов иммунного ответа, апоптоза и клеточного цикла), и, как следствие, продукция провоспалительных цитокинов снижалась.
- так, при воздействии этанола (25 мМ) на линию макрофагов RAW264,7 и культуры моноцитов крови человека в течение 24 ч. с последующей стимуляцией ЛПС, отмечалось снижение продукции TNF- α (фактор некроза опухоли) за счет увеличения экспрессии IL-1R-ассоциированной киназы моноцитов.
- такой же результат наблюдался и при культивирование моноцитарной клеточной линии Mono-Mac-6 в присутствии этанола (25–75 мМ) в течение 24 ч. Показано, что воздействие этанола (25 мМ) на макрофаги и моноциты периферической крови человека в течение 60 мин. приводило к активации фактора транскрипции теплового шока-1 (HSF-1), который уменьшает ядерную транслокацию NFκB ; тогда как HSF-1, контактируя с промоторной областью TNF- α, подавляет передачу сигналов мембранных белков TLR-4.
- также было выявлено, что воздействие этанола (25 мМ) на моноциты периферической крови человека увеличивало продукцию противовоспалительного цитокина — IL-10.

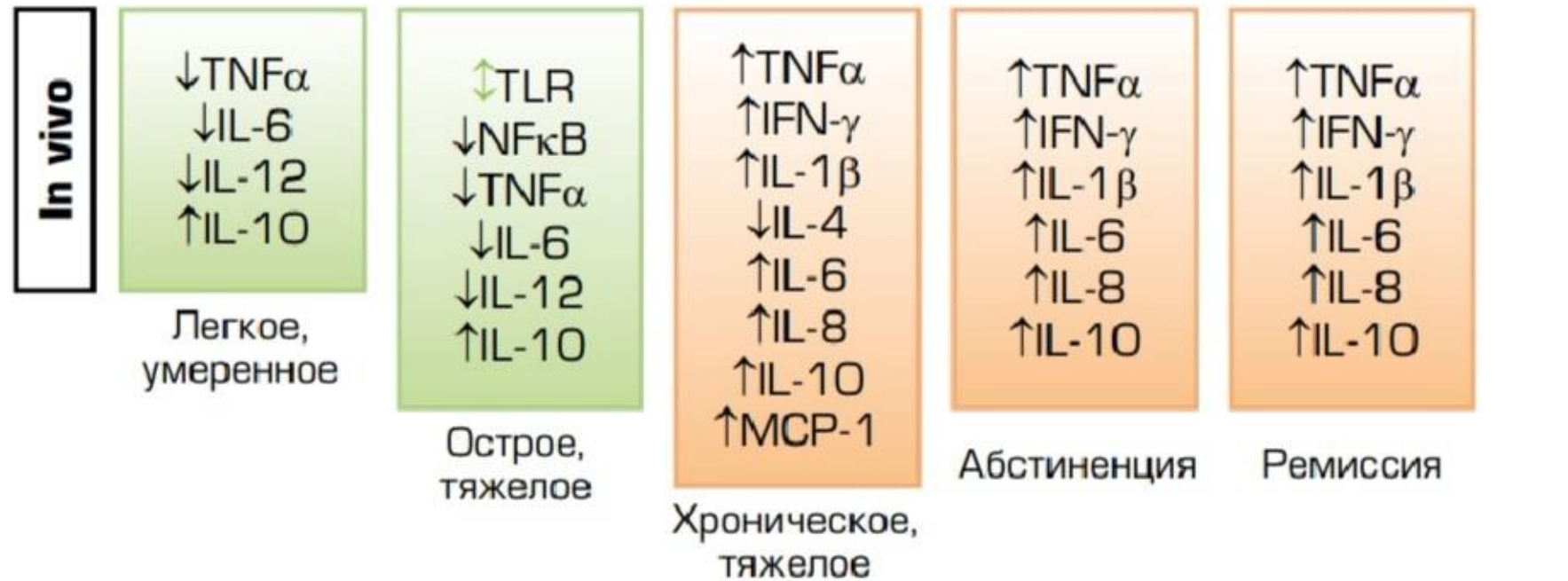


При проведении опытов in vivo было показано, что:

- через 2 ч. после однократного введения через желудочный зонд самкам мышей этанола в количестве 6 г/кг массы тела идет снижение концентрации провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-12 в периферической крови в ответ на TLR2/TLR6 (зимозан), TLR5 (бактериальный флагеллин), TLR7 (R-848) и TLR9 (ДНК CpG). В ответ на стимуляцию TLR2/TLR6 (зимозан) регистрировалось увеличение уровня IL-10 в крови.
- в этом же эксперименте также было обнаружено снижение продукции макрофагами IL-6 и IL-12, выделенными через 2 ч. после инъекции ЛПС.
- этанол, вводимый мышам в концентрации 6 г/кг через зонд, способствовал увеличению уровней белков острой фазы в сыворотке крови — амилоида A и P, которые обнаруживаются на ранней стадии воспалительного ответа и призывают иммунные клетки в участок воспаления. При введении дозы алкоголя в 2 раза меньше этого эффекта не наблюдалось.
- было установлено, что в течение первых 20 мин. после эпизодического употребления алкоголя ( $\approx 130$  мг/дл) добровольцами (мужчинами и женщинами) общее количество моноцитов периферической крови и секреция ими TNF- $\alpha$ , возрастали. Но, через 2 и 5 ч. после употребления этанола, количество циркулирующих моноцитов уменьшалось, а уровень противовоспалительного цитокина IL-10 увеличивался.
- на макрофагах, культивированных в питательной среде с добавлением этанола (25–100 мМ) в течение 24 ч., было показано дозозависимое снижение эффероцитоза — процесса поглощения мёртвых нейтрофилов макрофагами, который имеет решающее значение для разрешения воспалительного процесса после инфицирования.



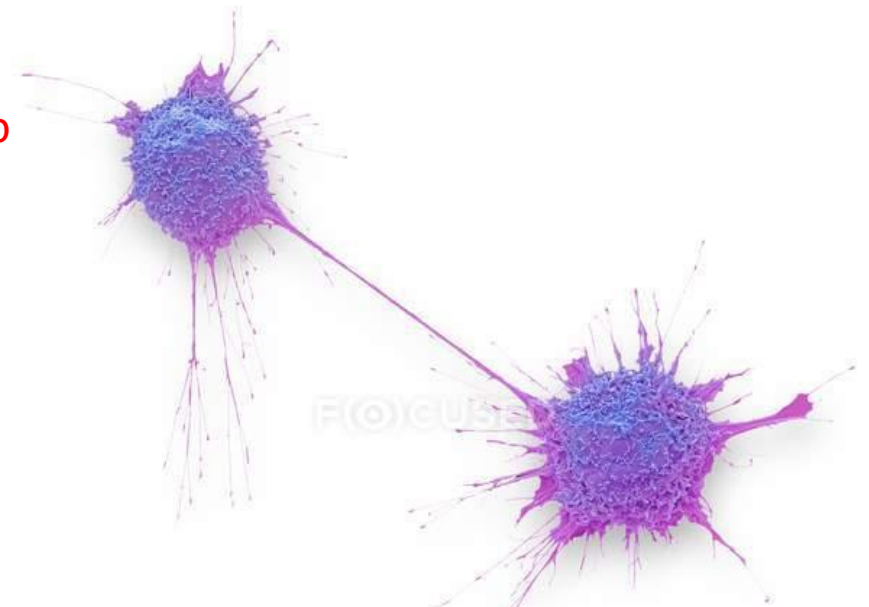
**ЭТАНОЛ**






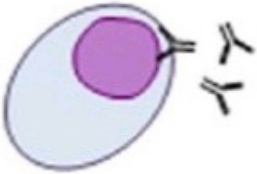
**Дендритные клетки (ДК):** также играют критическую роль в активации Т-клеток и иницировании адаптивных иммунных реакций. Поглощают антигены в периферических тканях, созревают, а затем перемещаются в лимфатические узлы, где представляют антигены Т-клеткам. Также долгосрочная *in vitro* обработка полученных от здоровых доноров миелоидных ДК (мДК) этанолом (25 мМ) в течение 7 дней, приводила к **снижению продукции этими клетками IL-12 и уменьшению экспрессии поверхностных ко-стимулирующих молекул — CD80 и CD86, тогда как секреция IL-10, напротив, возрастала.**

Кроме того, мДК, полученные от здоровых добровольцев мужского и женского пола, вскоре после употребления ими 2 мл 40 % этанола/кг массы тела, демонстрировали **снижение способности индуцировать пролиферацию Т-клеток в ответ на антиген**, что свидетельствует о нарушенном представлении антигена.

В эксперименте с приматами был зафиксирован ингибирующий эффект этанола на продукцию фактора роста гепатоцитов (HGF), колониестимулирующего фактора роста гранулоцитов (G-CSF) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) мононуклеарными клетками крови, полученными после 12 мес. хронического воздействия алкоголя.



Дендритные клетки

клетки	умеренное употребление алкоголя	Злоупотребление алкоголем	
	хроническое	острое	хроническое
<b>моноциты</b> 	↑ Фагоцитарная активность IL-6, фактор некроза опухоли (TNFα)	↓ Число клеток в циркуляции: интерлейкин ы (IL-6, IL- 12), TNFα ↑	↑↑↑ TNFα
<b>дендритные клетки</b> 			↓ IL-12, иммуногло булин(CD80 /CD86) ↑
<b>Т-лимфоциты</b> 	↑ Число клеток в циркуляции IL-2, IL-4, IL- 10, IFN-γ (Интерферон) Ответ на вакцинацию ↓ Отношение	↑ Апоптоз	↓ Число клеток в циркуляции Наивные клетки Антиген- специфический ответ Т-клетки памяти
<b>в-лимфоциты</b> 	↑ Число клеток в циркуляции ↓ IgA, IgM, IgG	↑ Апоптоз IgA	↓ Число клеток в циркуляции ↑↑↑ IgA, IgM

Таким образом, исследования *in vitro* и *in vivo* демонстрируют, что этанол модулирует функцию клеток врожденного иммунитета в зависимости от дозы и продолжительности его воздействия.

Так, потребление *in vivo* умеренных количеств алкоголя увеличивает фагоцитоз и уменьшает синтез провоспалительных факторов, тогда как хроническое злоупотребление большими доз алкоголя ингибирует фагоцитоз и продукцию факторов роста.

## Влияние алкоголя на адаптивный иммунитет

Употребление алкоголя также влияет на клеточно-опосредованный и гуморальный иммунитет. Было выявлено, что:

-злоупотребление алкоголем связано с сокращением числа субпопуляций лимфоцитов.

-злоупотребляющие (900–2980 г этанола в мес.) алкоголем мужчины имеют более низкие значения В-клеток в периферической крови, чем умеренно (300–1100 г этанола в месяц) или малопьющие (<100 г этанола в месяц).

-анализ, проведённый на основании обследования 153 хронических алкоголиков (мужчин и женщин) без заболеваний печени, выявил снижение у них значений индекса иммунорегуляции Т-клеток в периферической крови.

-потребление в качестве единственного источника жидкости 6 % этанола в течение 8 нед. у молодых мышей приводило к уменьшению числа Т-клеток на 75 % по сравнению с его исходным уровнем. Аналогично, у самцов крыс, которым вводили жидкую диету, содержащую 8,7 % этанол на протяжении 4 нед., наблюдали прогрессирующую потерю как CD4, так и CD8 Т-клеток. Повышенный апоптоз Т- и В-лимфоцитов, выделенных из тимуса, селезенки и лимфатических узлов у самцов мышей, наблюдался в результате 16-часовой их инкубации с 0,4–2 % этанола.

-в отличие от этих результатов, умеренное потребление пива (330 мл для женщин и 660 мл для мужчин ежедневно) в течение 30 дней приводило к значительному увеличению количества лейкоцитов, зрелых CD3 Т-лимфоцитов, нейтрофилов и базофилов у женщин и базофилов у мужчин.



В эксперименте на мышах хроническое потребление 20% этанола в питьевой воде в течение 6 мес. уменьшало число пула наивных Т-клеток и увеличивало процент Т-клеток памяти в результате повышенной гомеостатической пролиферации последних. Важно, что повышение содержания Т-клеток памяти связано с развитием хронических воспалительных заболеваний и возрастных патологий, таких как **остеопороз, саркопения, болезнь Альцгеймера, аутоиммунные и онкологические заболевания, сердечно-сосудистая патология и др.**, а уменьшение пула наивных Т-клеток ассоциировано с нарушением и снижением формирования эффективных иммунных реакций на инфекцию и вакцинацию.



## При проведении опытов на добровольцах было выявлено, что

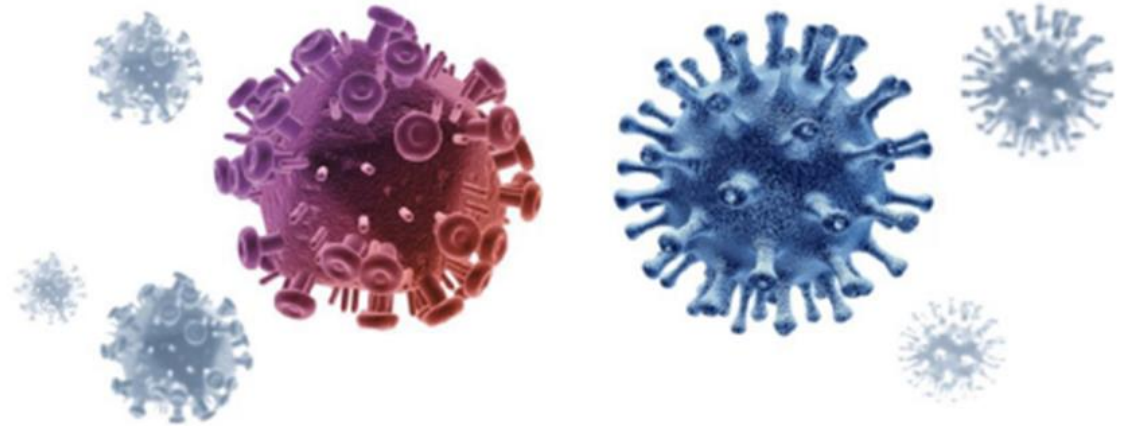
1. У пациентов (взрослые мужчины) с тяжелой степенью алкоголизма (900–2490 г этанола в мес., 90/249 условных доз в мес.) было зарегистрировано увеличение концентрации IgA и IgM в крови по сравнению с мало пьющими (90 г этанола в мес., <9 условных доз) или умеренно пьющими (300–900 г этанола в мес., 30/90 условных доз).
2. Аналогичным образом, исследование, проведенное среди 460 мужчин и 221 женщины с разной степенью алкоголизма, обнаружило дозозависимое увеличение уровней IgA в сыворотке крови. Предполагают, что повышенная секреция иммуноглобулинов у категории алкоголизирующих лиц может быть обусловлена воздействием ацетальдегида на белки печени и перекисным окислением липидов клеточных мембран малондиальдегидом, что приводит к потенциальному протеканию аутоиммунных реакций.
3. Интересным является тот факт, что уровни IgG, IgM и IgA в крови лиц умеренно употребляющих алкоголь, были снижены в сравнении со злоупотребляющими.
4. Аналогичным образом, у категории умеренно употребляющих алкоголь, наблюдались более низкие уровни IgG по сравнению с группой людей, полностью воздерживающихся от спиртных напитков.

Подтипы Т-клеток	Основные функции	Дефекты, вызванные хроническим действием этанола	Потенциальные эпигенетические мишени
<b>CD8 (клетки-«цбийцы») + цитолитические /цитотоксические Т-клетки</b>	Прямое цитотоксическое действие	↓ производство CD8 <sup>+</sup> Т-клеток в селезенке и тимусе ↑ растворимый рецептор CD8 → блокирует активацию АПК	
<b>CD4(отвечают за иммунный ответ на бактериальные, вирусные и грибковые инфекции) + Т-хелперы 1 (Th1)</b>	↑ IFN $\gamma$ → активация макрофагов и цитолитических Т-клеток	↓ производство CD4 <sup>+</sup> в селезенке и тимусе ↓ продукция IL-12 ДК → ↓ дифференцировка в направлении Th1	↓ ДНК-метилирование → ↑ транскрипция гена, кодирующего IFN $\gamma$ ( <i>Ifng</i> )
<b>CD4+ Т-хелперы 2 (Th2)</b>	↑ IL-4, IL-5, IL-13 → активация эозинофилов ↑ продукции антител плазматическими клетками	↓ производство CD4 <sup>+</sup> в селезенке и тимусе ↓ Th1 и ↓ Th17 → преобладание Th2	↑ Метилирование ДНК → ↓ транскрипция гена, кодирующего IL-4 (Il4) ↑ ацетилирование гистонов → ↓ транскрипция Il4
<b>CD4+ Т-хелперы 17 (Th17)</b>	↑ IL-17, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-23, IL-26 → ↑ Антимикробные пептиды Участие в поддержании иммунитета слизистых оболочек	↓ продукция IL-23 макрофагами → ↓ дифференцировка в направлении Th17	

1. вызванная хроническим потреблением алкоголя Т-клеточная лимфопения увеличивает количество активированных Т-клеток и их гомеостатическую пролиферацию, что приводит к росту числа Т-клеток памяти относительно наивных лимфоцитов.
2. Умеренное потребление алкоголя обладает противоположным действием.
3. Алкоголь также способен модулировать продукцию иммуноглобулинов.

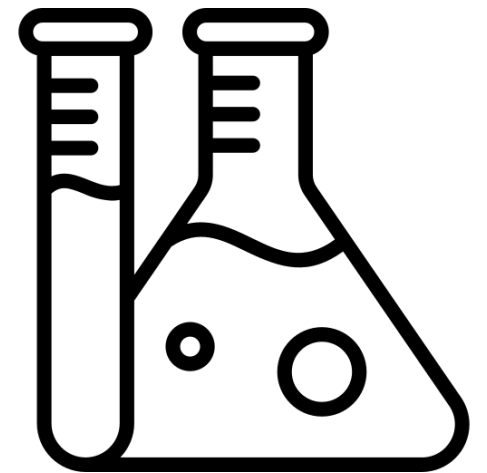
## Алкоголь, инфекция и вакцинация

Хроническое злоупотребление алкоголем приводит к повышенной восприимчивости и заболеваемости бактериальными и вирусными инфекциями, в частности, бактериальной пневмонией, туберкулезом, гепатитами. Также показано, что употребление алкоголя стимулирует прогрессирование хронических вирусных инфекций, таких как СПИД (ВИЧ) и гепатит С.



## Было проведено ряд исследований:

1. Исследование, включавшее 391 участника (мужчин и женщин), намеренно подвергавшихся контакту с пятью различными дыхательными вирусами, показало, что низкая частота заболеваемости простудными инфекциями связана с умеренным потреблением алкоголя (1–2 дозы/день).
2. Результаты второго исследования, включающего в протокол группу из 4272 мужчин и женщин, выявило, что умеренное употребление алкоголя имеет обратную зависимость с риском возникновения простудных заболеваний.
3. Третье исследование, участниками которого стали 899 мужчин обнаружило, что у трезвенников значительно больше вероятность перенести 2 или более эпизодов простуды, по сравнению с лицами, которые потребляли 11,5–35,8 г этанола в день. Интересным является тот факт, что умеренное потребление алкоголя ассоциировано с **увеличением цитокинпродуцирующей активности Т-клеток в отношении факторов: IL-2, IL-4, IL-10 и IFN- $\gamma$** .



## Были проведены опыты и на крысах

У самцов, которым ежедневно вводили этанол (0,5 г/кг в жидкой диете в течение 5 дней или 0,43 г/ кг в течение 28 дней) были выявлены более эффективный Т-клеточный иммунный ответ на *Mycobacterium bovis*. Напротив, более высокие острые (6 г/ кг/день в течение 5 дней) или хронические (12 г/кг/день в течение 28 дней) дозы этанола обладали иммуноподавляющим эффектом.

В более поздних экспериментах, проведенных на макаках резус, было выявлено, что умеренное ежедневное потребление алкоголя в течение года (среднее значение концентрации этанола в крови около 40 мг/дл) способствовало увеличению числа CD4 и CD8 Т-клеток.

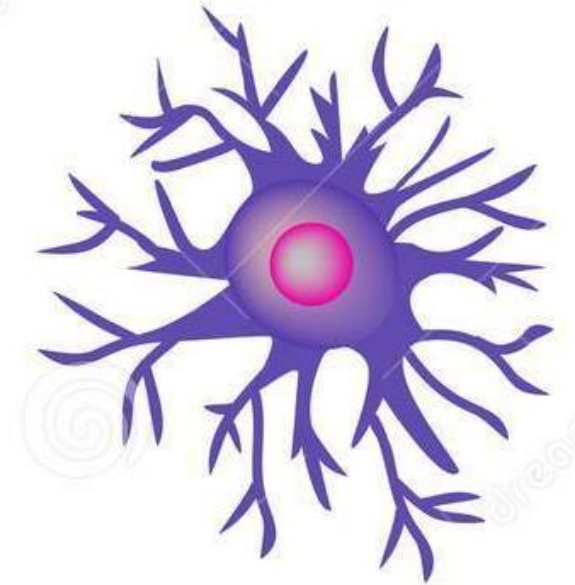


Анализ приведенных данных говорит о том, что употребление алкоголя оказывает дозозависимое воздействие на реакцию организма в ответ на агенты инфекционной природы. Результаты оценки влияния умеренного потребления алкоголя на иммунную систему демонстрируют более эффективную реакцию на инфекцию и вакцинацию; в экспериментальных моделях хронического злоупотребления алкоголем подтверждена повышенная восприимчивость к инфекциям.

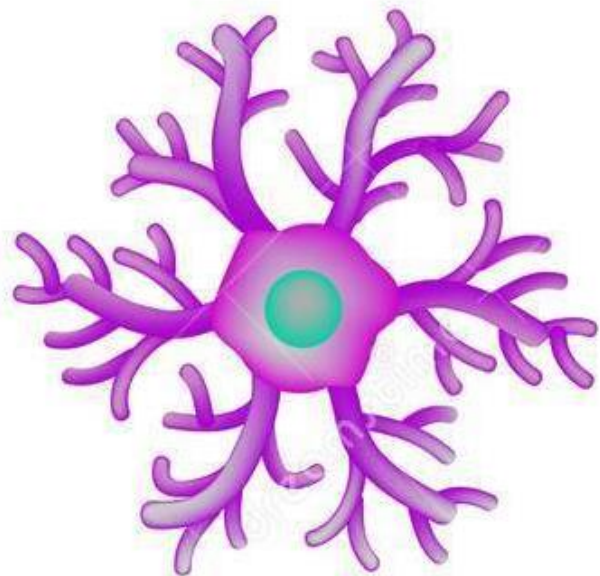
## Влияние этанола на резидентные иммунные клетки ЦНС

**Астроциты:** основные глиальные клетки, которые регулируют функцию нейронов и гомеостаз ЦНС.

Исследования *in vitro* показали, что ацетальдегид дозозависимым образом индуцирует продукцию цитокинов астроцитами. В частности, воздействие низких (1 мМ) и высоких (5 мМ) концентраций ацетальдегида в течение 24 ч. **стимулировало секрецию IL-6** астроцитами, тогда как более длительная экспозиция (7 дней, 5 мМ) ингибировала продукцию изучаемого фактора. Напротив, как кратковременные (24 ч.), так и длительные (7 дней) воздействия низких и высоких концентраций ацетальдегида **снижали секрецию TNF- $\alpha$**  первичными культурами астроцитов у крыс.



ASTROCYTE



MICROGLIA

**Микроглия:** Влияние, оказываемое алкоголем на микроглию, изучено в меньшей степени. Через рецепторы распознавания паттернов, микроглия **продуцирует цитокины и модулирует нейровоспалительные реакции при повреждении головного мозга и нейродегенеративных заболеваниях.** Активированная микроглия реагирует на повреждение нейронов путем их удаления через фагоцитоз. Установлено, что хроническая активация микроглии способствует развитию ряда нейродегенеративных заболеваний, включая болезнь Паркинсона, Альцгеймера, прионные болезни, рассеянный склероз и ВИЧ-деменцию. Установлено, что активация микроглии, вызванная этанолом, реализуется посредством передачи сигналов через TLR4.

Подводя итог вышесказанному, следует отметить, что влияние алкоголя (*in vitro* и *in vivo*) на функцию иммунных клеток центральной нервной системы (ЦНС), в частности, астроцитов и микроглии, также зависит от дозы и продолжительности его воздействия.





## **Взаимосвязь между алкоголем, стрессом и иммунитетом**

Механизмы дозозависимого воздействия этанола на иммунную систему могут быть реализованы через регуляцию активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС).

Известно, что реакция на различные стрессовые факторы опосредуется несколькими нейронными путями, которые сходятся на паравентрикулярном ядре (ПВЯ) гипоталамуса.

Данная модель взаимодействий ГГНС с иммунной системой включает глюкокортикоид-опосредованное взаимодействие компонентов врожденного иммунитета и подавление адаптивной иммунной системы. Все иммунные клетки экспрессируют глюкокортикоидный рецептор (ГР) в определенном состоянии активации, что позволяет глюкокортикоидам (ГК) оказывать избирательное, дозозависимое действие на различные процессы иммунного гомеостаза.

Влияние ГК зависит от активации ГР с последующим изменением экспрессии ряда генов. В частности, комплекс «ГК-ГР» связывается с определенными последовательностями ДНК, называемыми глюкокортикоид-реагирующими элементами (ГРЭ) с участием факторов транскрипции, что способствует снижению противовоспалительного ответа за счет угнетения активации противовоспалительных транскрипционных факторов и сигнальных путей или усилению экспрессии/ продукции противовоспалительных белков. В частности, глюкокортикоиды воздействуют на протеинкиназы; супрессоры сигналов цитокинов (SOCS); индуцибельную лейциновую молнию и др.

**Употребление алкоголя - это стресс для организма**, вызывающий формирование адаптационного синдрома. В случае хронического его употребления развивается дистресс-синдром (болезнь адаптации) — алкоголизм. Но механизмы, лежащие в основе этого сложного процесса, остаются неизвестными.

1. Эпизодическое принятие алкоголя повышает уровень кортизола в крови, хотя при переходе от редкого употребления алкоголя к алкогольной зависимости, реакция ГГНС ослабляется, снижая действие кортизола.
2. Влияние алкоголя на активацию/функцию ГГНС зависит от продолжительности стрессового стимула (хронический или острый), и от того, какое действие оказывает алкоголь на нервную систему вне стрессовых условий (стимулирующее или седативное). Приём алкоголя у здоровых мужчин блокировал активацию ГГНС (на уровне гипоталамуса/выше) и затормаживал реакцию кортикотропина и кортизола на кортикотропин-рилизинг фактор, наблюдалось нарушение секреции ферментов, необходимых для синтеза стероидных гормонов из предшественников.
3. Одним из механизмов, с помощью которого алкоголь модулирует активность ГГНС, является его воздействие на нейроны паравентрикулярного ядра гипоталамуса, которые продуцируют кортикотропин-рилизинг гормон (кортиколиберин) и аргинин-вазопрессин — пептиды, необходимые для ответа на стресс и высвобождения АКТГ из передней доли гипофиза. Так, IL-1 индуцирует активацию ГГНС и высвобождение глюкокортикоидов, которое подавляет функции иммунной системы.

## Заключение

Подводя итог вышесказанному, следует отметить, что механизмы дозозависимого воздействия алкоголя на иммунную систему и регуляцию ГГНС остаются недостаточно изученными из-за отсутствия систематического анализа, оценивающего влияние концентрационных характеристик и разных временных периодов употребления этанола.

В условиях *in vivo* создаётся сложный психогенный компонент, в котором взаимодействуют стрессовые гормоны и молекулы иммунной сигнализации. Кроме того, ученые сталкиваются с рядом ограничений при проведении исследований на человеческой популяции и животных, в том числе этическими проблемами у людей, и стрессом у экспериментальных животных при изучении эффектов больших доз алкоголя. Важно также учитывать, что воздействие этанола на иммунную систему *in vivo* может включать в себя влияние его первичного метаболита, ацетальдегида.

Таким образом, существует необходимость в углубленном анализе, в комплексе оценивающим дозозависимые эффекты хронического употребления этанола на иммунитет, для выяснения сложных взаимодействий между этанолом, его метаболитами и функциональной активностью ГГНС, а также дефицитом питательных веществ и иммунной системой.



*Спасибо за внимание*

