

УДК:612.35: 616.36-002.2

**ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ И СТЕРИЛЬНЫХ
ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ
ГЕПАТИТОМ В****Абдулазизхожиев Б.Р., Алейник В.А., Жураева М.А., Бабич С. М.**

Андижанский государственный медицинский институт,

Андижанский филиал института иммунологии и геномики человека АН РУз, г.

Андижан, Республика Узбекистан

Стерильное воспаление возникает во всех тканях после повреждения различной этиологии. Очень мало известно о том, как неспецифическая для HBV стерильная воспалительная реакция запускается после уже имеющегося повреждения, вызванного специфическими цитотоксическими лимфоцитами. После гибели гепатоцитов воспалительная реакция запускается не только из-за вируса, и наиболее вероятными сигналами воспаления могут быть сигналы опасности, также называемые молекулярными паттернами, ассоциированными с повреждением (DAMP), которые высвобождаются самим некротическим гепатоцитом [2]. Кроме того, секреция DAMPs также происходит как регулируемое событие, не зависящее от некроза. DAMPs также могут активно секретироваться иммунными клетками (например, моноцитами, макрофагами и дендритными клетками) в ответ на воспалительные стимулы [4]. В целом, DAMPs, высвобождаемые повреждёнными гепатоцитами, действуют как «сигналы тревоги», чтобы «информировать/предупреждать» иммунную систему о потенциальных угрозах и в значительной степени способствуют последующему иммунному ответу и повреждению печени.

Существует множество доказательств того, что сигнальные процессы, запускаемые DAMP – молекулярными структурами, образующимися при гибели любых видов клеток, аналогичны процессам, запускаемым PAMP - патоген-ассоциированными молекулярными структурами, и у них одни и те же рецепторы распознавания образов (PRR) и связанные с

ними сигнальные пути [6]. Таким образом, DAMP выполняют те же функции, что и PAMP, с точки зрения их способности провоцировать воспаление. В данное время рассматривается несколько молекулярных структур, связанных с повреждением и относящихся к DAMP в контексте инфекции HBV, их еще называют алларминами. К ним относятся белки теплового шока (HSP), набор высококонсервативных белков обеспечивающих правильную укладку белков и восстанавливая неправильно уложенные белки при HBV инфекции [7]. Мочевая кислота (МК) - высвобождаемая умирающими клетками, может вызывать активацию клеток врожденного иммунитета (например, нейтрофилов) через TLR-инфламмосомный путь и выполнять провоспалительную функцию DAMP, которая помогает стимулировать воспалительную реакцию [3]. Одним из наиболее часто изучаемых DAMP, связанных со стерильным воспалением, может быть высокомолекулярный белок 1 (HMGB1). Внеклеточный HMGB1, высвобождающийся из умирающих клеток, может действовать как «сигнал опасности», вызывая врожденный и адаптивный иммунный ответ с помощью широкого спектра рецепторов (RAGE, TLR4, TLR2 и TLR9) [8]. Ряд экспериментальных исследований связывает HMGB1 с заболеваниями печени, вызванными вирусом гепатита В. IL-1 α также относится к группе алларминов, но в отличие от IL-1 β , не секретируется активно, а вместо этого транслоцируется в ядро, чтобы участвовать в регуляции транскрипции генов при повреждении клеток [5]. IL-33 - это новый член семейства IL-1, который, как было доказано, способен активировать иммунный ответ Т-хелперов 2-го типа посредством белка ST2, связанного с рецептором IL-1. IL-33 также действует как алармин при повреждении тканей и как механически чувствительный цитокин, секретируемый живыми клетками [1].

Исследования в области стерильного воспаления стремительно развиваются в последние несколько лет, о чём свидетельствует быстро растущий список DAMP [9]. Были достигнуты значительные успехи в изучении их потенциальных рецепторов и последующих сигнальных процессов. Благодаря этим достижениям также стало понятно, какую важную роль играют DAMP в развитии и прогрессировании повреждения печени, связанного с ВГВ [10].

Цель исследования: изучить особенности изменения инфекционных и стерильных иммунных реакций у больных хроническим вирусным гепатитом В.

Материал и методы. В работе были обследованы 25 здоровых и 62 пациента имели положительные серологические маркеры HBV инфекции: из них 35 пациентов имели

комбинацию маркеров, характеризующих пост инфекцию HBV, у 27 человек имелись серологические маркеры, указывающие на хроническую HBV инфекцию. В сыворотки крови у всех обследованных определяли методом ИФА (стандартные наборы ЗАО «Вектор-Бест», Россия) следующие маркеры на HBV инфекцию: HBs-антигена, HBe – антигена, анти-HBs антитела, HBeIgG, HBc IgG, HBcIgM. Также биохимическими методами, печеночные пробы: аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), общий и прямой билирубин (стандартные наборы ЗАО «Вектор-Бест». Кроме того, исследовали показатели: про воспалительных - интерлейкин-1 β (IL-1) и фактор некроза опухолей- α (TNF- α), и противовоспалительных - интерлейкин -10 (IL-10) с применением тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» Россия. Помимо этого, в крови исследовались показатели аларминов принимающих участие в стерильном воспалении. Методом ИФА изучали уровень высокомолекулярной группы бокса 1 (HMGB1), интерлейкина-1 α (ИЛ-1 α) с применением тест-систем «Cusabio Biotech» США, интерлейкина-33 (ИЛ-33) с тест-системой «Cloud Clone Corp» США, а также показатели мочевой кислоты «HUMAN» Германия.

Статистическая обработка была проведена методом вариационной статистики с вычислением средних величин и их средних ошибок, определением коэффициента достоверности разности Стьюдента-Фишера (t).

Результаты и их обсуждение. В ходе проведённых исследований установлено, что у здоровых индивидов серологические маркеры вируса гепатита В (HBV) не обнаруживались. В то же время у пациентов с постинфекционным состоянием, связанным с HBV, чаще всего фиксировались высокие уровни серологических маркеров Anti-HBs и Anti-HBc IgG. Величины этих маркеров выражались в значениях, превышающих норму. В то же время маркеры Anti-HBe IgG встречались реже и с более низкими титрами. Дополнительно, показатели печёночных проб, включая активности АЛТ, АСТ, общего и прямого билирубина, находились в пределах нормы, однако их значения были несколько выше по сравнению с таковыми у здоровых лиц. При количественном определении ДНК вируса гепатита В у здоровых субъектов вирусная ДНК не обнаруживалась, в то время как у пациентов с постинфекционным состоянием уровень ДНК вируса составил 3862 ± 457 МЕ/мл (Табл. 1).

В результате исследования воспалительных маркеров у лиц с постинфекционным гепатитом В было установлено, что уровень про-воспалительных цитокинов, таких как

TNF- α и IL-1 β , значительно превышал таковой у здоровых субъектов. Концентрация TNF- α была в 2 раза выше, а величина IL-1 β - в 2,6 раза выше, чем в группе здоровых лиц. Напротив, показатель противовоспалительного цитокина IL-10 оказался значительно ниже, от значения, наблюдаемого у здоровых участников, что подтверждает его снижение в 1,5 раза. При анализе уровня аларминов у пациентов с постинфекционным HBV было отмечено, что показатель HMGB1 был незначительно выше в 1,3 раза, но этот результат не имел статистической достоверности. Точно так же величины ИЛ-1 α и ИЛ-33 оказались в 1,4 раза выше по сравнению с контрольной группой, однако эти изменения также не были статистически значимыми. Также было зафиксировано незначительное повышение показателя мочевой кислоты, который в 1,3 раза превышал значения, полученные у здоровых лиц (Табл. 2).

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о значимых изменениях в показателях воспалительных и противовоспалительных маркеров у пациентов с постинфекционным HBV, однако у этих лиц в показателях изменения аларминов не отмечалось статистической значимости.

Таблица 1.

Изменение антивирусных антител и печеночных проб здоровых и больных вирусным гепатитом В

Сывороточные маркеры	Здоровые	HBV пост инфекция	Хроническая HBV инфекция
Встречаемость антивирусных антител к HBV в %			
HBs-антиген	-	-	62 $\pm$ 7,3
HBe -антиген	-	-	71 $\pm$ 7,9
Anti-HBs	-	82 $\pm$ 9,3	-
Anti-HBe IgG	-	53 $\pm$ 6,1	-

Anti-HBc IgG	-	69±7,8	79±8,7
Anti-HBcIgM	-	-	85±9,6
Вирус гепатита В, количественное определение ДНК			
ДНК HBV ME/мл	Не обнаружено	3862±457	89530±9372
Печеночные пробы			
АЛТ (ммоль/ч*л) Норма 0,1-0,68	0,32±0,03	0,49±0,05*	0,82±0,09* °
АСТ (ммоль/ч*л) Норма 0,1-0,68	0,41±0,05	0,61±0,07*	1,14±0,12* °
Общий билирубин (мкмоль/л) Норма 8,5-20,5	16,4±1,5	25,3±1,8*	55,8±7,9* °
Прямой билирубин (мкмоль/л) Норма 0-5,0	2,7±0,3	6,2±0, 7*	22,4±3, 1* °

*- достоверно отличающиеся величины к показателям здоровых лиц.

° - достоверно отличающиеся величины к показателям HBV пост инфекции.

При обследовании пациентов с хронической инфекцией вирусом гепатита В (HBV) было установлено, что у данной группы часто встречаются серологические маркеры, такие как Anti-HBcIgG, Anti-HBcIgM и HBe-антиген, которые проявлялись с выраженными и достоверно высокими значениями оптической плотности (ОП). В то же время, HBs-антиген выявлялся у меньшего числа пациентов и демонстрировал низкие показатели ОП. Кроме того, анализы на печеночные пробы (АЛТ, АСТ, общий билирубин и прямой билирубин) у больных с хронической HBV инфекцией показали достоверное повышение этих показателей по сравнению как с показателями здоровых лиц, так и с результатами у

пациентов, перенесших HBV-инфекцию в прошлом. При количественном определении ДНК вируса гепатита В уровень вирусной нагрузки у больных хроническим HBV был значительно выше и составил 89530 ± 9372 МЕ/мл, что было достоверно превышающим данные лиц, перенесших постинфекционное состояние, а также здоровых индивидов, у которых данный показатель не был обнаружен (Табл. 1).

У больных с хронической HBV-инфекцией уровень провоспалительного интерлейкина TNF- α был достоверно в 3,2 раза выше, чем у пациентов с HBV-постинфекцией, и в 6,3 раза существеннее, чем у здоровых лиц. Аналогично, величина IL-1 β у пациентов с хронической HBV-инфекцией была достоверно в 2,7 раза повышена по сравнению с пациентами с HBV-постинфекцией и в 7 раз значительнее, чем у здоровых лиц. Напротив, концентрация противовоспалительного интерлейкина IL-10 показала противоположную динамику. Она была достоверно в 3,1 раза ниже у больных с хронической HBV-инфекцией по сравнению с пациентами с HBV-постинфекцией и в 4,5 раза ниже, чем у здоровых участников исследования (Табл. 2).

Таблица 2

Изменение показателей ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-10, HMGB1, ИЛ-1 α , ИЛ-33, а также мочевой кислоты в крови здоровых и больных вирусным гепатитом В

Сывороточные маркеры	Здоровые	HBV пост инфекция	Хроническая HBV инфекция
Про воспалительные и противовоспалительные интерлейкины			
ИЛ-ФНО пг/мл	$4,7 \pm 0,6$	$9,2 \pm 1,1^*$	$29,5 \pm 3,8^{*o}$
ИЛ-1 β пг/мл	$2,9 \pm 0,3$	$7,4 \pm 0,9^*$	$20,3 \pm 2,8^{*o}$
ИЛ-10 пг/мл	$8,6 \pm 0,9$	$5,9 \pm 0,6^*$	$1,9 \pm 0,2^{*o}$
Алармины			
HMGB1 пг/мл	$79 \pm 8,1$	$105 \pm 10,6$	$138 \pm 14,2^*$
ИЛ-1 α пг/мл	$62 \pm 6,5$	$84 \pm 8,7$	$97 \pm 10,1^*$

ИЛ-33 пг/мл	36,4±3,8	49,1±5,2	67±6,9*
Мочевая кислота мкмоль/л	291±30,8	374±38,3	485±49,2*

*- достоверно отличающиеся величины к показателям здоровых лиц.

° - достоверно отличающиеся величины к показателям HBV пост инфекции.

В ходе анализа уровня аларминов у пациентов с хронической HBV инфекцией было установлено, что концентрация HMGB1 была в 1,3 раза выше у пациентов с хронической инфекцией HBV по сравнению с пациентами, перенесшими HBV-постинфекцию, однако данное различие не достигало статистической значимости. Вместе с тем, уровень HMGB1 у пациентов с хроническим HBV был в 1,7 раза значительно выше, чем у здоровых людей. Подобные изменения были отмечены и при исследовании другого алармина, ИЛ-1α, где концентрация этого показателя была в 1,2 раза выше у пациентов с хронической инфекцией HBV по сравнению с пациентами, перенесшими HBV-постинфекцию, однако статистически значимых различий не наблюдалось. В то же время, уровень ИЛ-1α у больных хроническим HBV был

в 1,6 раза выше, чем у здоровых людей. Анализ уровня ИЛ-33, рассматриваемого как алармин, показал незначительное увеличение этого показателя в 1,4 раза у пациентов с хронической инфекцией HBV по сравнению с пациентами, перенесшими HBV-постинфекцию, однако это различие не имело статистической значимости. В то же время, уровень ИЛ-33 был в 1,8 раза выше у пациентов с хроническим HBV по сравнению с таковым у здоровых людей. Аналогичные изменения были выявлены и при исследовании мочевой кислоты, где отмечалось несущественное увеличение ее уровня в 1,3 раза относительно значений у пациентов с HBV-постинфекцией и значительное повышение в 1,7 раза по сравнению с уровнем у здоровых лиц (Табл. 2).

По результатам полученных данных у пациентов с постинфекционным HBV обнаружены высокие уровни Anti-HBs и Anti-HBc IgG, что соответствует формированию иммунного ответа после перенесённой острой инфекции. Низкая вирусная нагрузка и отсутствие HBsAg указывают на контролируруемую элиминацию вируса. При хронической инфекции выявлены маркеры активной репликации вируса, HBeAg, Anti-HBc IgM и высокая вирусная нагрузка. Сниженная частота выявления HBsAg с низкой оптической

плотностью может быть связана с мутантными формами HBV или переходом в HBsAg-негативную фазу. Нормальные, но повышенные относительно здоровых лиц показатели АЛТ/АСТ у постинфекционных пациентов могут отражать остаточные изменения в печени. Значительное повышение печёночных ферментов и билирубина при хроническом HBV подтверждает активное воспаление и повреждение гепатоцитов, характерное для персистирующей инфекции. Высокая вирусная нагрузка при хронической HBV указывает на активную репликацию вируса HBV, напрямую повреждает гепатоциты, вызывая некроз и апоптоз. Это приводит к высвобождению аларминов из ядер погибших клеток, которые усиливают воспаление через активацию TLR и инфламмасом.

Дисбаланс провоспалительных (TNF- α , IL-1 β) и противовоспалительных (IL-10) цитокинов выражен при хронической HBV инфекции, при этом TNF- α и IL-1 β превышают уровни постинфекционной группы, а IL-10 снижен. Это поддерживает предположение о хроническом воспалении. У пациентов с постинфекционным HBV умеренное повышение TNF- α и IL-1 β при нормальных печёночных пробах может указывать на остаточную иммунную активацию без значительного повреждения печени. Резкое повышение TNF- α и IL-1 β при хронической HBV инфекции подтверждает, что доминирующим механизмом является инфекционное воспаление, а не стерильное. Эти цитокины стимулируются вирусными компонентами. Незначительное повышение HMGB1, ИЛ-1 α , ИЛ-33 и мочевой кислоты у постинфекционных пациентов без статистической значимости позволяет предположить, что алармины не играют ключевой роли и исключается выраженное стерильное воспаление в этой фазе. Если бы стерильное воспаление было главной причиной, у пациентов с постинфекционным HBV (где вирус элиминирован) уровни аларминов должны быть сопоставимы или выше, чем при хронической инфекции. Однако этого не наблюдается. При хронической HBV инфекции уровни аларминов выше, особенно по сравнению со здоровыми лицами, что может быть связано с персистирующим клеточным стрессом и повреждением. Показатели HMGB1, ИЛ-33 и мочевой кислоты у хронических пациентов растут пропорционально виремии, что подтверждает их связь с активной инфекцией, а не с собственными стерильными процессами. Значительное снижение противовоспалительного IL-10 при хронической HBV нарушает баланс в сторону провоспалительных реакций, что характерно для инфекционного, а не стерильного воспаления. Таким образом более высокие показатели аларминов при хронической HBV инфекции по сравнению с постинфекционным состоянием не связаны с доминированием стерильного воспаления.

Выводы. Высокая вирусная нагрузка при хронической HBV инфекции указывает на активную репликацию вируса. HBV напрямую повреждает гепатоциты, вызывая некроз и апоптоз. Это приводит к высвобождению аларминов из ядер погибших клеток, которые усиливают воспаление через активацию TLR и инфламмасом. Резкое повышение TNF- α и IL-1 β подтверждает, что доминирующим механизмом является инфекционное воспаление, а не стерильное. Эти цитокины стимулируются вирусными компонентами. При активной вирусной репликации часть воспаления может быть связана с стерильными механизмами, однако эти процессы вторичны и зависят от первичного вирусного триггера. У пациентов с постинфекционным HBV отмечается низкая вирусная нагрузка и отсутствие активной репликации с меньшим повреждением клеток. Алармины повышены незначительно и без статистической значимости, что исключает выраженное стерильное воспаление при HBV постинфекции. Более высокие показатели аларминов при хронической HBV по сравнению с постинфекционным состоянием не связаны с доминированием стерильного воспаления. Они являются следствием активной вирусной репликации и сопутствующего повреждения гепатоцитов. Стерильные механизмы вносят вклад лишь как вторичный фактор, зависимый от персистенции вируса.

Список литературы:

1. Dwyer G. K., D'Cruz L. M., Turnquist H. R. Emerging functions of IL-33 in homeostasis and immunity //Annual review of immunology. – 2022. – Т. 40. – №. 1. – С. 15-43.
2. Kubes P., Mehal W. Z. Sterile inflammation in the liver //Gastroenterology. – 2012. – Т. 143. – №. 5. – С. 1158-1172.
3. Ma, Q., Immler, R., Pruenster, M., Sellmayr, M., Li, C., von Brunn, A., ... & Steiger, S. Soluble uric acid inhibits β 2 integrin-mediated neutrophil recruitment in innate immunity //Blood, The Journal of the American Society of Hematology. – 2022. – Т. 139. – №. 23. – С. 3402-3417.
4. Murao, A., Aziz, M., Wang, H., Brenner, M. and Wang, P. Release mechanisms of major DAMPs //Apoptosis. – 2021. – Т. 26. – №. 3. – С. 152-162.
5. Nadeau-Vallée, M., Obari, D., Palacios, J., Brien, M. È., Duval, C., Chemtob, S., & Girard, S. Sterile inflammation and pregnancy complications: a review //Reproduction. – 2016. – Т. 152. – №. 6. – С. R277-R292.

6. Rosin D. L., Okusa M. D. Dangers within: DAMP responses to damage and cell death in kidney disease //Journal of the American Society of Nephrology. – 2011. – Т. 22. – №. 3. – С. 416-425.
7. Singh, M. K., Shin, Y., Ju, S., Han, S., Choe, W., Yoon, K. S., ... & Kang, I. Heat shock response and heat shock proteins: Current understanding and future opportunities in human diseases //International Journal of Molecular Sciences. – 2024. – Т. 25. – №. 8. – С. 4209.
8. Tang, D., Kang, R., Zeh, H. J., & Lotze, M. T. The multifunctional protein HMGB1: 50 years of discovery //Nature Reviews Immunology. – 2023. – Т. 23. – №. 12. – С. 824-841.
9. Vénéreau E., Ceriotti C., Bianchi M. E. DAMPs from cell death to new life //Frontiers in immunology. – 2015. – Т. 6. – С. 422.
10. Zheng, S., Qi, W., Xue, T., Zao, X., Xie, J., Zhang, P., ... & Liu, A. Chinese medicine in the treatment of chronic hepatitis B: The mechanisms of signal pathway regulation //Heliyon. – 2024. – Т. 10. – №. 20. – С. e39176

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ И СТЕРИЛЬНЫХ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ В

Абдулазизхожиев Б.Р., Алейник В.А., Жураева М.А., Бабич С. М.

**Андижанский государственный медицинский институт, Андижанский филиал
института иммунологии и геномики человека АН РУз, г. Андижан, Республика
Узбекистан**

РЕФЕРАТ

В работе изучались особенности изменения инфекционных и стерильных иммунных реакций у больных хроническим вирусным гепатитом В. Сделано заключение, что высокая вирусная нагрузка при хронической HBV инфекции указывает на активную репликацию вируса. HBV напрямую повреждает гепатоциты, вызывая некроз и апоптоз. Это приводит к высвобождению аларминов из ядер погибших клеток, которые усиливают воспаление через активацию TLR и инфламмасом. Резкое повышение TNF- α и IL-1 β подтверждает, что доминирующим механизмом является инфекционное воспаление, а не стерильное. Эти цитокины стимулируются вирусными компонентами. При активной вирусной репликации

часть воспаления может быть связана с стерильными механизмами, однако эти процессы вторичны и зависят от первичного вирусного триггера. У пациентов с постинфекционным HBV отмечается низкая вирусная нагрузка и отсутствие активной репликации с меньшим повреждением клеток. Алармины повышены незначительно и без статистической значимости, что исключает выраженное стерильное воспаление при HBV постинфекции. Более высокие показатели аларминов при хронической HBV по сравнению с постинфекционным состоянием не связаны с доминированием стерильного воспаления. Они являются следствием активной вирусной репликации и сопутствующего повреждения гепатоцитов. Стерильные механизмы вносят вклад лишь как вторичный фактор, зависимый от персистенции вируса.

Ключевые слова: хронический HBV гепатит, HBV постинфекция, интерлейкины, алармины, печеночные пробы, стерильное воспаление, инфекционное воспаление.

CHANGES IN INFECTIOUS AND STERILE IMMUNE REACTIONS IN PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS B

Abdulazizkhodzhev B.R., Aleinik V.A., Zhuraeva M.A., Babich S.M.

Andijan State Medical Institute, Andijan Branch of the Institute of Human Immunology and Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Andijan, Republic of Uzbekistan

ABSTRACT

The work studied the changes in infectious and sterile immune responses in patients with chronic viral hepatitis B. It was concluded that high viral load in chronic HBV infection indicates active replication of the virus. HBV directly damages hepatocytes, causing necrosis and apoptosis. This leads to the release of alarmins from the nuclei of dead cells, which increase inflammation through the activation of TLR and inflammasomes. The sharp increase in $\text{TNF-}\alpha$ and $\text{IL-1}\beta$ confirms that infectious inflammation is the dominant mechanism, rather than sterile inflammation. These cytokines are stimulated by viral components. In active viral replication, some of the inflammation may be due to sterile mechanisms, but these processes are secondary and depend on the primary viral trigger. Patients with post-infectious HBV have a low viral load

and no active replication with less cellular damage. Alarmins are slightly elevated and without statistical significance, which excludes pronounced sterile inflammation in HBV post-infection. Higher alarmin levels in chronic HBV compared to the post-infectious state are not associated with the dominance of sterile inflammation. They are a consequence of active viral replication and concomitant hepatocyte damage. Sterile mechanisms contribute only as a secondary factor dependent on the persistence of the virus.

Key words: chronic HBV hepatitis, HBV postinfection, interleukins, alarmins, liver function tests, sterile inflammation, infectious inflammation.