

Определение Иммунного Статуса У Пациентов С Вирусными Гепатитами В Исходе В Циррозе Печени

Рахимова В. Ш

*Центр развития профессиональной квалификации медицинских работников Узбекистан,
Ташкент*

Файзуллаев Х. Н, Эгамов И. Н

НИИ Вирусологии РСНПМЦЭМИПЗ, Узбекистан, Ташкент

Аннотация: Целью данной работы явилось изучение иммуногенетических критериев прогнозирования развития вирусных циррозов печени. Сегодня ключевая роль в иммунном ответе отводится цитокинам. Известно, что при хронических вирусных гепатитах происходит дисрегуляция цитокинов иммунной системы с преобладанием провоспалительных цитокинов и формированием персистирующего воспаления в печеночной ткани. Известно, что вирусные гепатиты приводят к стимуляции продукции цитокинов Th1 типа $INF-\gamma$ и IL-2. Хотя роль цитокинов в апоптозе гепатоцитов изучена во многих исследованиях, взаимосвязь с генетическими факторами в формировании фиброза и цирроза печени недостаточно выяснена. В связи с чем представляло интерес изучение состояния цитокинового статуса у больных хроническими вирусными гепатитами HBV, HCV, микст-инфекций HBV+HCV, HBV+HDV с исходом в ЦП.

Ключевые слова: цитокины, иммуноцитокина IL-1 β , иммуноцитокин IL-6, иммуноцитокин TNF- α , вирусные гепатиты HBV, HCV, микст-инфекции HBV+HCV, HBV+HDV.

Введение. Согласно современным представлениям, повреждение печени при хронических гепатитах зависит от интенсивности воспалительных процессов, уровня виремии и генотипа вируса, при этом ведущую роль играет активность иммунной системы [1, 12].

Воспалительный процесс инициируется и опосредуется с участием широкого спектра цитокинов, некоторые из которых могут обладать двойственной функцией, т.е. способны оказывать как протективное, так и повреждающее действие. Известно, что при хронических вирусных гепатитах (ХВГ) гепатоциты по мере гибели заменяются соединительной тканью, вследствие чего развивается фиброз, а затем цирроз печени. Уже на стадии фиброза, продукция иммунными клетками различных цитокинов является важным показателем функционального состояния системы иммунитета при хронических гепатитах [3, 7].

Цитокины как регулирующие факторы межклеточного взаимодействия играют важную роль в патогенезе воспаления и фиброза, что объясняет повышенный интерес к их изучению при хронических гепатитах.

Как известно, характер иммунного ответа на вирусную инфекцию зависит от доминирующего участия клонов Т-лимфоцитов-хелперов (Th) субклассов 1 и 2, которые различаются по спектру продуцируемых ими цитокинов. Активация Th1, продуцирующих $INF-\gamma$, IL-2, TNF- α , ведет к стимуляции функций Т-лимфоцитов и макрофагов и развитию иммунного ответа по

клеточному типу, который имеет решающее значение в защите от внутриклеточных микроорганизмов, включая вирусы. Th2 секретируют IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 и IL-13, стимулирующие преимущественно гуморальное звено иммунитета. Нарушение баланса продукции цитокинов – соотношения количества Th1/Th2-клеток - имеет важное значение в иммунопатогенезе прогрессирования хронических гепатитов [4, 5].

Одновременное включение функций Th1 и Th2 тормозит развитие любой формы иммунного ответа и приводит к развитию иммунодефицита [2, 15].

Следует подчеркнуть, что особенности продукции цитокинов и их роль в процессах воспаления и фиброза (ЦП) при ХВГ остаются во многом неизученными. Имеющиеся в литературе данные зачастую носят противоречивый характер. Особенно это касается больных циррозом печени, у которых процессы воспаления и фиброза протекают одновременно.

Трансформация фиброза вирусной этиологии при ЦП также, по мнению многих авторов, связана с усилением спонтанной продукции цитокинов, отражающих характер клинического течения заболевания, декомпенсацию процесса и прогнозирующих летальность данной группы пациентов [7, 13]. При этом другие исследователи приводят данные об истощении иммунных механизмов при ЦП вирусной этиологии [8, 12].

Так известно, что IL-1 (α и β) продуцируется мононуклеарами периферической крови и макрофагами и стимулирует эмиграцию полиморфноядерных лейкоцитов из костного мозга. Что не мало важно, клетками-мишенями действия IL-1 кроме миоцитов, костных клеток, лимфоцитов, являются и гепатоциты [9]. IL-1 участвует практически во всех этапах иммунного ответа, способствует активации клеток в очаге воспаления, усиливает продукцию других цитокинов, а также простагландинов, синтез коллагена и фибронектина, стимулирует фагоцитоз, генерацию супероксид-радикалов, вызывает дегрануляцию тучных клеток [10]. Повышение уровня IL-1 β в сыворотке крови наших пациентов указывает не только переход хронизацию вирусной инфекции в организме, но и на ряд сопутствующих заболеваний, не только воспалительного, но и вероятно аутоиммунного характера.

Фактор некроза опухоли - α (TNF- α), который активирует Т- и В-лимфоциты, естественные клетки-киллеры, опосредует гепатотоксический эффект, принимает участие в апоптозе поврежденных (в том числе вирусом) клеток. Повышение уровня TNF- α в сыворотке крови характеризует процессы воспаления и элиминации клеток путем прямой цитотоксичности или апоптоза [12, 13]. Роль TNF α в развитии фиброза печени противоречива: с одной стороны TNF α необходим для естественной пролиферации гепатоцитов в период регенерации печени [14] с другой стороны TNF α обладает выраженным гепатотоксическим действием, что показано в экспериментальных и клинических исследованиях [15].

Согласно исследованию Пициани М. (2002), TNF- α и IL-1 способны активировать звездчатые клетки печени, играющие ключевую роль в фиброгенезе печени [10] и как следствие, гиперпродукция TNF- α и IL-1 β свидетельствует об активном воспалении печеночной ткани у больных в обеих группах. Известно, что роль IL-6 в воспалении тесно связана с IL-1 β и TNF- α . Однако IL-6 в большей степени способен стимулировать гепатоциты, которые начинают синтезировать белки острой фазы воспаления. Этот цитокин вызывает обострение хронических заболеваний и переводит острые болезни в хроническую форму. Ему свойственна противовирусная активность. После встречи с антигеном, специализированные клетки первоначально выделяют IL-1 β и TNF- α , а только потом IL-6 [11].

В связи с вышеизложенным представляло интерес изучение состояния цитокинового статуса у больных хроническими вирусными гепатитами HBV, HCV, микст-инфекций HBV+HCV, HBV+HDV инфекций с исходом в ЦП.

Изучение цитокинового статуса может расширить представления о значении этих нарушений в патогенезе хронических вирусных гепатитов В и С, а также даст возможность использовать цитокиновый статус в качестве дополнительного критерия при лечении ЦП.

Цель исследования. Изучение иммуногенетических критериев прогнозирования развития вирусных циррозов печени.

Материалы и методы. Настоящее исследование выполнено с 2015 по 2018 гг. в НИИ вирусологии МЗ РУз. Под наблюдением находились 106 больных хроническими вирусными гепатитами с исходом в цирроз печени проходивших стационарное лечение в отделении интенсивной терапии и реанимации НИИ вирусологии МЗ РУз.

Возраст обследованных больных, вошедших в исследование в результате отбора в соответствии с вышеперечисленными критериями колебался от 19 до 64 лет и в среднем составил $44,2 \pm 1,88$ года. Подавляющее большинство больных ЦП вирусной этиологии, являлись лицами мужского пола – 68 человек (64,1%), женщины составили 38 человек (35,8%).

В зависимости от хронической инфекции все больные ЦП разделены на 5 групп. В этиологической структуре ЦП преобладали больные с HCV – 45 человек (42,4%), пациенты с HBV составили 15 человек (14,2%), микст-инфекции HBV+HCV – 11 человек (10,4%) и HBV + HDV – 35 человек (33,0%).

Контрольную группу составили 32 практически здоровых мужчин и женщин.

С целью изучения состояния иммунной системы обследованных лиц использовали следующие методы количественной оценки основных показателей иммунного статуса:

- определение концентрации иммуноцитокина IL-1β в сыворотке крови;
- определение концентрации иммуноцитокина IL-6 в сыворотке крови;
- определение концентрации иммуноцитокина TNF-α в сыворотке крови.

Результаты.

Состояние цитокинового статуса у больных при моноинфекциях HBV и HCV

В результате проведенного анализа в периферической крови пациентов с хроническими вирусными гепатитами и условно здоровых лиц выявлены достоверные различия в содержании исследуемых цитокинов IL-1β, IL-6, TNF-α (табл. 1).

Таблица 1 Уровень цитокинов у обследованных групп при HBV и при HCV, ($M \pm m$)

Цитокины	Контр. группа (n=32)	HBV (n=32)	HCV (n=30)
IL-1β пг/мл	$9,53 \pm 0,48$	$20,28 \pm 1,93^*$	$18,60 \pm 1,41^*$
IL-6 пг/мл	$6,25 \pm 0,43$	$28,25 \pm 1,34^*$	$24,90 \pm 1,14^*$
TNF-α пг/мл	$11,97 \pm 0,51$	$23,41 \pm 2,34^*$	$22,87 \pm 1,78^*$

Примечание: * Значения достоверны по отношению к данным контрольной группы ($p < 0,05 - 0,001$)

Анализ полученных данных выявил у обследованных больных усиление спонтанной продукции как Th1, так и Th2 цитокинов. Так во всех показателях отмечались изменения, уровень которых достоверно превышал аналогичные показатели контрольной группы.

Концентрация IL-1β в группе больных с HBV превысила в 2,1 раза по сравнению с данными контрольной группы, что составило в среднем $20,28 \pm 1,93$ пг/мл ($p < 0,01$). А у больных с HCV

IL-1 β был выше в 1,9 раз показателей контроля ($18,60 \pm 1,41$ пг/мл против $9,53 \pm 0,54$ пг/мл) ($p < 0,05$) (рис.1).

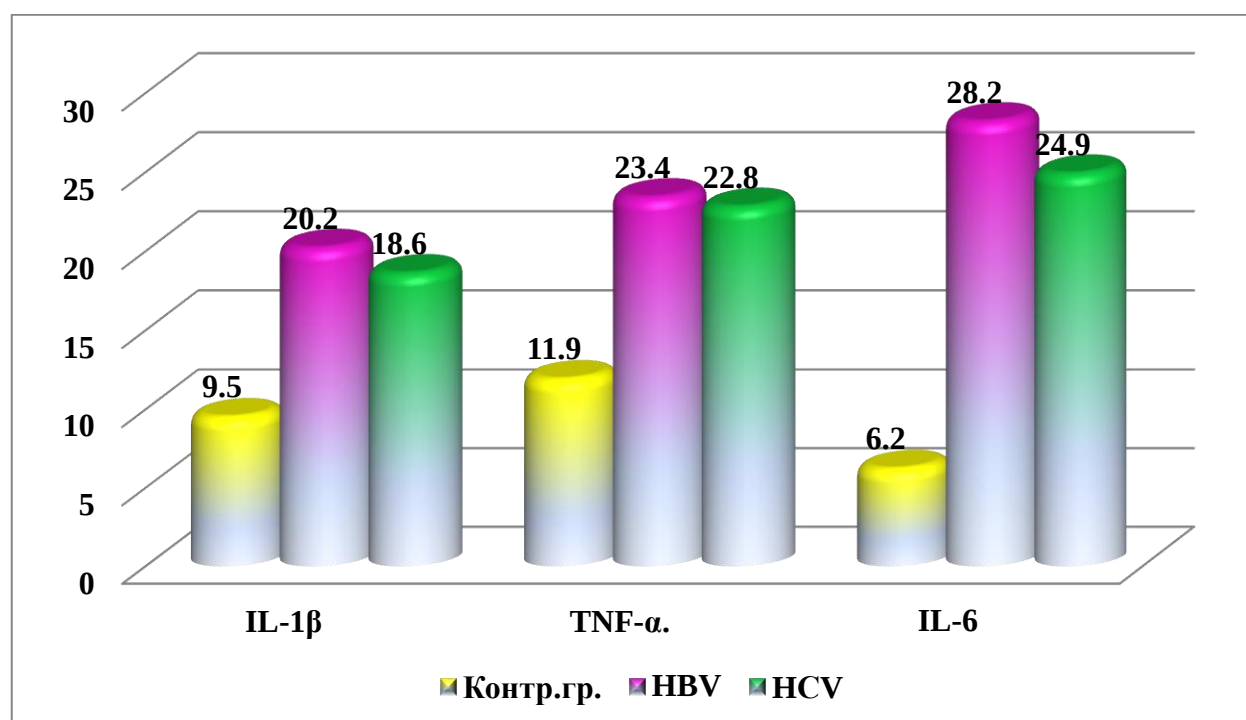


Рис. 1. Уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке периферической крови у обследованных пациентов при HBV и HCV, (пг/мл)

Дисбаланс цитокинов является одной из причин утяжеления воспалительного процесса при хронических заболеваниях. Многочисленные исследования свидетельствуют о том, что патогены могут оказывать разнонаправленное действие на продукцию различных цитокинов.

Следующим этапом нашей работы было изучение синтеза TNF- α . Так, анализ результатов определения содержания TNF- α в сыворотке крови пациентов, выявил значения выше контрольных в 1,9 раз в обеих группах (HBV - $23,41 \pm 2,34$ пг/мл, HCV - $22,87 \pm 1,78$ пг/мл против $11,97 \pm 0,51$ пг/мл) ($P < 0,05$), что отражает тяжесть патологического процесса.

При сравнительном анализе сывороточная концентрация провоспалительного цитокина IL-6 у больных HBV составила $28,25 \pm 1,34$ пг/мл, что было значимо выше показателя в группе контроля в 4,5 раза ($p < 0,05$). А концентрация IL-6 у больных в группе с HCV превысила в 4 раза значений контроля ($24,90 \pm 1,14$ пг/мл и $6,25 \pm 0,43$ пг/мл), что также свидетельствовало об активации воспалительного процесса. Полученные нами данные указывают на то, что развитие ЦП вне зависимости от этиологии характеризуется гиперпродукцией провоспалительного цитокина IL-6, отражающего тяжесть поражения гепатоцитов, выраженность воспалительного процесса и прогрессирование заболевания.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что усиленный синтез TNF- α и/или IL-6 у обследованных пациентов при HBV и при HCV предположить присутствие фиброза печени различной степени выраженности.

Состояние цитокинового статуса у больных при сочетанных HBV/HCV и HBV/HDV

Хроническая HDV-инфекция приводит к более тяжелому заболеванию печени, чем хроническая HBV-моноинфекция, и ассоциируется с быстрым развитием фиброза и увеличением риска

развития гепатоцеллюлярной карциномы, а также ранней декомпенсацией уже имеющегося цирроза печени [15].

Таблица 2 Уровень цитокинов у обследованных групп при сочетанной HBV/HCV и HBV/HDV, (M±m)

Цитокины	Контрольная группа (n=32)	HBV/HCV (n=30)	HBV/HDV (n=28)
IL-1β пг/мл	9,53±0,48	76,60±3,33*	81,25±2,58*
IL-6 пг/мл	6,25±0,43	70,13±2,37*	79,29±4,20*
TNF-α пг/мл	11,97±0,51	67,23±3,91*	77,39±3,87*

Примечание: * Значения достоверны по отношению к данным контрольной группы ($p < 0,05 - 0,001$)

Анализ полученных показателей в группах на фоне микшированной HBV/HCV и HBV/HDV инфекцией выявил у обследованных больных нарастание спонтанной гиперпродукции изучаемых провоспалительных цитокинов (табл. 2), уровень которых достоверно превышал аналогичные показатели контрольной группы.

Результаты исследования показали, что уровень провоспалительных цитокинов IL-1β, IL-6 и TNFα был достоверно повышенным у всех больных при сочетанных формах ($p < 0,01$) с максимальным их значением у пациентов HBV/HDV. Так, уровень IL-1β в группе при сочетанной HBV/HCV составил среднем $76,60 \pm 3,33$ пг/мл, что в 8 раз выше значений контрольной группы - $9,53 \pm 0,48$ пг/мл ($p < 0,05$). А синтез IL-1β при сочетанной HBV/HDV составил $81,25 \pm 2,58$ пг/мл, что в 8,5 раз выше нормы ($p < 0,05$) (рис. 2).

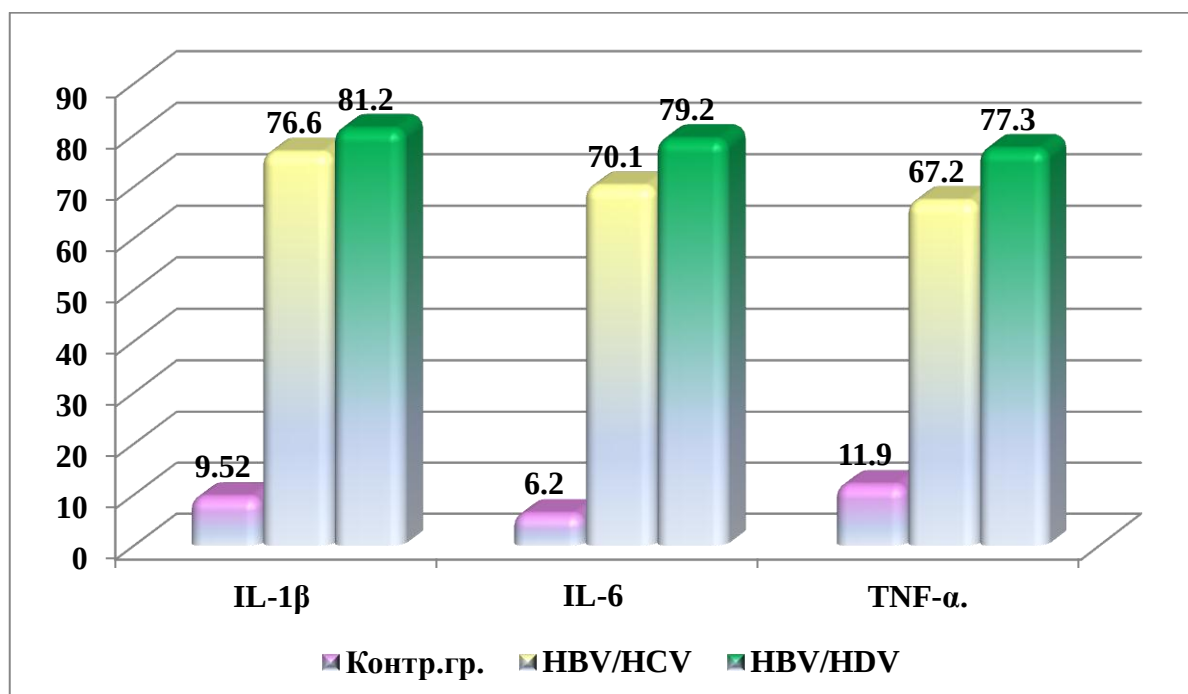


Рис. 2. Уровень провоспалительных цитокинов в сыворотки крови у обследованных пациентов при сочетанной HBV/HCV и HBV/HDV (пг/мл)

Повышение TNFα в зависимости от стадии фиброза свидетельствует, с одной стороны, об активности провоспалительного ответа при прогрессировании гепатита D, с другой стороны – об одновременном увеличении активности противовоспалительных цитокинов.

В ходе работы было выявлено, что уровень TNF α у больных в группе HBV/HCV был повышен более чем в 5,5 раз ($p<0,05$), а в случае с группой HBV/HDV концентрация оказалась достоверно выше 6,6 раз ($p<0,05$), по сравнению с параметрами контрольной группы ($67,23\pm3,91$ пг/мл и $77,39\pm3,87$ пг/мл против $11,97\pm0,51$ пг/мл) (рис. 2). Подобные значения свидетельствуют об интенсивных иммуновоспалительном и цитолитическом процессах. Эти изменения расценивались нами как патогенетический признак неадекватного функционирования иммунной системы.

Сывороточная концентрация провоспалительного цитокина IL-6 у больных с HBV/HCV составила $70,13\pm2,37$ пг/мл в среднем, что было значимо выше в 11 раз ($P<0,01$), а у больных с HBV/HDV на 12,7 раз ($79,29\pm4,20$ пг/мл) ($p<0,001$), чем данный показатель в группе контроля ($6,25\pm0,49$ пг/мл) и свидетельствовало об активации воспалительного процесса.

Полученные нами данные в целом показали, что течение патологического процесса у больных сочетанной HBV/HCV и HBV/HDV, также, как и у больных с моногенным HBV и HCV инфицированием ассоциировано с выраженным дисбалансом Th1 и Th2 системах, а также усилением цитокин продуцирующей функции клеток периферической крови.

Выводы. Анализ содержания провоспалительного цитокина IL-1 β показал его увеличение у больных хроническими гепатитами HBV, HCV, микст-инфекций HBV+HCV, HBV+HDV с исходом в ЦП по сравнению с группой контроля. Наивысшая его продукция наблюдалась в группе пациентов с HBV+HDV.

При микст-гепатитах определяли достоверно более высокие провоспалительного цитокина IL-6, чем у больных с моно гепатитами ($p<0,01$).

Повышенный уровень провоспалительного цитокина TNF- α установлен у всех без исключения больных хроническими гепатитами HBV, HCV, микст-инфекций HBV+HCV, HBV+HDV с исходом в ЦП по сравнению со здоровыми.

Таким образом, у пациентов с вирусными гепатитами наблюдается дисбаланс иммунной системы, при котором регистрируется одновременное возрастание как Th1, так и Th2 цитокинов. Анализ результатов цитокинового статуса в нашем исследовании ещё раз доказал, что вирусы способны модулировать иммунный ответ хозяина, что приводит к развитию вторичного иммунодефицита, проявляющегося дисбалансом иммунологических функций.

Список литературы.

1. Абдукадырова М. А. и др. Генетический полиморфизм il28b при хронических вирусных гепатитах //Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. – 2022. – Т. 11. – №. 2 (41). – С. 64-68.
2. Абдуллаев С.М., Целищева Ю.И., Самоходская Л.М. и др. Генетические факторы агрессивного течения хронического гепатита С // Вестн. РАМН. - 2007. - № 1. – С. 8–13
3. Алленов М.Н., Волчкова Е.В., Умбетова К.Т., Иванова И.В., Сундукова А.Н., Зуевская С.Н., Свиридова М.Б., Пак С.Г. Уровень цитокинов воспаления и характер аутоиммунных нарушений у больных гепатитом С // Эпидемиология и инфекц. болезни. – 2006. - № 5. – С. 45-49.
4. Рахимова В. Ш. и др. Современные аспекты диагностики внепечёночных проявлений хронического вирусного гепатита С //Вопросы науки и образования. – 2020. – №. 22 (106). – С. 36-43.

5. Рахимова В. Ш., Эгамова И. Н., Ярмухамедова Н. А. Внепеченочные проявления хронического вирусного гепатита С //Журнал гепато-гастроэнтерологических исследований. – 2020. – Т. 1. – №. 1.
6. Рахимова В. Ш., Ярмухамедова Н. А. Некоторые аспекты поражения печени при SARS-COV-2 //Проблемы биологии и медицины. – 2021. – Т. 1. – С. 125.
7. Умаркулов З. З. и др. Роль диапневтических методов в диагностики и результатов хирургического лечения больных паразитарными и непаразитарными кистами печени //Журнал гепато-гастроэнтерологических исследований. – 2023. – Т. 4. – №. 3.
8. Умаркулов З. З., Хамидов О. А., Давлатов С. С. Диапневтические методы в хирургическом лечении кистозных образований печени //Журнал гуманитарных и естественных наук. – 2023. – №. 6. – С. 108-112.
9. Умаркулов З. З., Хамидов О. А., Давлатов С. С. Результаты анализа хирургического лечения больных кистозными образованиями печени //Журнал гуманитарных и естественных наук. – 2023. – №. 6. – С. 133-137.
10. Шамсиев Ж. А. и др. Результаты хирургического лечения эхинококкоза печени //European Science. – 2017. – №. 7 (29). – С. 49-54.
11. Эгамова И. Н., Рахимова В. Ш., Ярмухамедова Н. А. роль полиморфизма il28b при коинфекции ВИЧ и ВГС //Биология. – 2023. – Т. 3. – С. 145.
12. Эгамова И.Н., Рахимова В.Ш., Ярмухамедова Н.А., Волкова Н.Н. / современные методы определения фиброза печени// достижения науки и образования ISSN: 2413-2071 №: 7 (61), 2020 С. 39-42.
13. Abdelwahab K.S., Ahmed Said Z.N. Status of hepatitis C virus vaccination: Recent update // World journal of gastroenterology. — 2016. — Vol. 22. — No 2. — P. 862—873.
14. Shamsiev A. M. et al. Экспериментально-морфологическое обоснование эффективности применения альбендазола для профилактики рецидива эхинококкоза после операции //Клінічна та експериментальна патологія. – 2018. – Т. 17. – №. 3.
15. Shamsiev A. M. et al. Эхинококкоз печени: частота встречаемости, патогенез, классификация, диагностика и лечение (обзор литературы) //Клінічна та експериментальна патологія. – 2018. – Т. 17. – №. 3.