

СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ ЦИТОКИНОВ И ХЕМОКИНОВ В КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ В НА РАННИХ СТАДИЯХ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ

Бацунов О.К.^{1,2}, Арсентьева Н.А.¹, Любимова Н.Е.¹, Эсауленко Е.В.^{1,3},
Семенов А.В.^{1,2}, Тотолян Арег А.^{1,2}

¹ ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Гепатит В – инфекционное вирусное заболевание, при котором происходит повреждение либо разрушение ткани печени и способное переходить в хроническую форму. При хроническом гепатите В (ХГВ) гепатоциты по мере гибели заменяются соединительной тканью, вследствие чего развивается фиброз, а затем цирроз печени. Ранняя диагностика фиброза печени является актуальной задачей при развитии ХГВ. Уже на этом этапе заболевания происходит активация иммунной системы, которая играет ведущую роль в повреждении печени при ХГВ. Основными регуляторами иммунных процессов выступают цитокины, которые опосредуют межклеточные взаимодействия. Отдельной группой цитокинов являются хемокины – белки клеточной миграции, при ХГВ они отвечают за инфильтрацию ткани печени активированными лейкоцитами. Цитокины и хемокины являются активными участниками фиброгенеза, поэтому они могут служить биомаркерами развития фиброза печени, в том числе и на ранних стадиях. Целью настоящего исследования стал анализ содержания некоторых цитокинов/хемокинов в периферической крови больных ХГВ для поиска потенциальных биомаркеров начальных стадий фиброза печени. В исследование включено 30 пациентов с подтвержденным диагнозом «ХГВ» со стадиями фиброза печени F0-F1 по шкале Metavir, 36 пациентов с диагнозом «хронический гепатит С» (F0-F1) и 37 условно здоровых лиц в качестве контрольной группы. Были определены концентрации следующих цитокинов/хемокинов: IFN γ , TNF α , CCL2/MCP-1, CCL8/MCP-2, CCL20/MIP-3 α , CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL11/I-TAC методом мультиплексного анализа по технологии xMAP (Luminex, США). В результате проведенного исследования установлено, что у пациентов с ХГВ в плазме крови содержание цитокина TNF α и хемокинов CCL2/MCP-1, CXCL9/MIG и CXCL10/IP-10 повышено, а хемокина CCL8/MCP-2 – снижено, что указывает на возможность использования этих цитокинов/хемокинов в качестве биомаркеров повреждения печени при ХГВ. В обследованной группе пациентов с ХГВ не выявлено зависимости концентраций цитокинов и хемокинов в плазме крови от вирусной нагрузки, что может объясняться ее низким уровнем. Для цитокинов плазмы крови у пациентов с ХГВ обнаружены корреляции между

Адрес для переписки:

Бацунов Олег Константинович
ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14.
Тел.: 8 (906) 227-68-57.
E-mail: batsunov@gmail.com

Address for correspondence:

Batsunov Oleg K.
Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14.
Phone: 7 (906) 227-68-57.
E-mail: batsunov@gmail.com

Образец цитирования:

О.К. Бацунов, Н.А. Арсентьева, Н.Е. Любимова, Е.В. Эсауленко, А.В. Семенов, Арег А. Тотолян «Содержание некоторых цитокинов и хемокинов в крови пациентов с хроническим гепатитом В на ранних стадиях фиброза печени» // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 2. С. 291-300.
doi: 10.15789/1563-0625-COC-1964

© Бацунов О.К. и соавт., 2020

For citation:

O.K. Batsunov, N.A. Arsentieva, N.E. Lyubimova, E.V. Esaulenko, A.V. Semenov, Areg A. Totolyan "Content of certain cytokines and chemokines in blood of patients with chronic hepatitis B in the early stages of liver fibrosis", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2020, Vol. 22, no. 2, pp. 291-300.
doi: 10.15789/1563-0625-COC-1964

DOI: 10.15789/1563-0625-COC-1964

содержанием TNF α и хемокинов CCL2/MCP-1 и CCL8/MCP-2, чего не наблюдается в контрольной группе. В то же время в контрольной группе обнаружена корреляция между содержанием TNF α и хемокина CXCL9/MIG, что не выявлено в группе больных. Для обеих групп обнаружена корреляция между содержанием хемокинов CXCL9/MIG и CXCL10/IP-10. На основании данных исследования разработан алгоритм, который позволяет установить в качестве причины развития начальной формы фиброза F0-F1 хронический гепатит В либо хронический гепатит С по содержанию в плазме крови цитокинов IFN γ , CCL2/MCP-1 и CCL8/MCP-2 с диагностической эффективностью 89,4%.

Ключевые слова: цитокины, хемокины, хронический гепатит В, фиброз печени

CONTENT OF CERTAIN CYTOKINES AND CHEMOKINES IN BLOOD OF PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS B IN THE EARLY STAGES OF LIVER FIBROSIS

Batsunov O.K.^{a, b}, Arsentieva N.A.^a, Lyubimova N.E.^a, Esaulenko E.V.^{a, c}, Semenov A.V.^{a, b}, Totolyan Areg A.^{a, b}

^a Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

^b First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

^c St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Hepatitis B is an infectious viral disease in which damage or destruction of liver tissue occurs, and which can turn into a chronic form. In chronic hepatitis B (CHB), hepatocytes are replaced by connective tissue as they die, resulting in fibrosis, and then cirrhosis of the liver. Early diagnosis of liver fibrosis is an urgent task in the development of CHB. Already at this stage of the disease, the immune system is activated, which plays a leading role in liver damage in CHB. The main regulators of immune processes are cytokines, which mediate intercellular interactions. A separate group of cytokines are chemokines – proteins of cell migration. In CHB, they are responsible for infiltration of liver tissue by activated white blood cells. Cytokines and chemokines are active participants in fibrogenesis, so they can serve as biomarkers for the development of liver fibrosis, including in the early stages. The purpose of this study was to analyze the content of certain cytokines/chemokines in the peripheral blood of patients with CHB in order to search for potential biomarkers of the initial stages of liver fibrosis. The study included 30 patients with a confirmed diagnosis of CHB with stages of liver fibrosis F0-F1 on the Metavir scale, 36 patients with a diagnosis of chronic hepatitis C (F0-F1) and 37 conditionally healthy individuals as a control group. Concentrations of the following cytokines/chemokines were determined: IFN γ , TNF α , CCL2/MCP-1, CCL8/MCP-2, CCL20/MIP-3a, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL11/I-TAC by multiplex analysis using xMAP technology (Luminex, USA). As a result of the study, it was found that in patients with CHB, the plasma content of cytokine TNF α and chemokines CCL2/MCP-1, CXCL9/MIG and CXCL10/IP-10 was increased, and the chemokine CCL8/MCP-2 was reduced, which indicates the possibility of using these cytokines/chemokines as biomarkers of liver damage in CHB. In the examined group of patients with CHB, there was no dependence of the concentrations of cytokines and chemokines in the blood plasma on the viral load, which may be explained by its low level. For plasma cytokines in patients with CHB, correlations were found between TNF α and CCL2/MCP-1 and CCL8/MCP-2 chemokines, which was not observed in the control group. At the same time, in the control group, a correlation was found between the content of TNF α and the chemokine CXCL9/MIG, which was not detected in the group of patients. For both groups, a correlation was found between the content of CXCL9/MIG and CXCL10/IP-10 chemokines. Based on the study data, an algorithm has been developed that allows us to establish chronic hepatitis B or chronic hepatitis C as the cause of the initial form of fibrosis F0-F1 in terms of the content of cytokines IFN γ , CCL2/MCP-1 and CCL8/MCP-2 in blood plasma with a diagnostic efficiency of 89.4%.

Keywords: cytokines, chemokines, chronic hepatitis B, liver fibrosis

Введение

Гепатит В – инфекционное вирусное заболевание, при котором происходит повреждение либо разрушение ткани печени. Риск развития хронического заболевания колеблется от 90% у новорожденных, родившихся от HBeAg-позитивных матерей, до 25-30% у грудных детей и детей в возрасте до 5 лет и составляет менее 10% у взрослых [4]. Кроме того, вероятность трансформации острого вирусного гепатита В в хронический намного выше у лиц с иммунодефицитными состояниями [3]. В настоящее время, по данным ВОЗ, в мире насчитывается около 257 млн носителей хронического гепатита В (ХГВ) [8]. Течение заболевания – волнообразное, с периодическими обострениями. По мере гибели клетки печени заменяются соединительной тканью, вследствие чего развивается фиброз, а затем цирроз печени. В некоторых случаях возможно развитие гепатоцеллюлярной карциномы [4].

Согласно современным представлениям, повреждение печени при ХГВ зависит от интенсивности воспалительных процессов, уровня вирусемии и генотипа вируса, при этом ведущую роль играет активность иммунной системы [7]. Участниками воспалительного процесса со стороны врожденного иммунитета являются нейтрофилы, натуральные киллеры и локальные фагоциты. Реакция адаптивного иммунитета на вирусную инфекцию – развитие таких иммунных ответов, как цитотоксический, в результате которого появляются специфические цитотоксические клетки, и гуморальный, с формированием антител к различным молекулярным структурам вируса [6].

В регуляции иммунных процессов принимают участие цитокины, специальные пептиды иммунной системы. Отдельную группу цитокинов составляют хемокины – молекулы, регулирующие клеточную миграцию. Выделяют четыре класса хемокинов в зависимости от расположения консервативных цистеинов в белковой молекуле: CXC, CC, CX3C и C, где C обозначает остатки цистеина, а X – любой другой аминокислотный остаток, разделяющий цистеины. При развитии воспалительных реакций именно они обеспечивают привлечение активированных клеток в очаг воспаления [6]. Основными источниками хемокинов в печени являются активированные моноциты, клетки Купфера, эндотелиальные клетки и гепатоциты [7].

Одной из актуальных задач ведения больных с ХГВ является мониторинг функционального состояния печени. «Золотым стандартом» диагностики фиброза печени остается пункционная биопсия – инвазивный метод, который не может быть использован для динамического наблю-

дения. Для оценки фиброза также применяют неинвазивный метод – эластометрию печени, которая позволяет с относительно высокой точностью дифференцировать выраженные и тяжелые степени фиброза, но не обладает достаточной чувствительностью при определении ранних стадий процесса. Цитокины принимают участие в фиброгенезе и потенциально могут служить биомаркерами фиброза печени [5]. С применением современных методов мультиплексного анализа, позволяющего в короткие сроки проанализировать содержание большого спектра биомолекул в плазме крови, возможно точное количественное определение цитокинов и хемокинов, которые могут быть использованы для оценки активности формирования фиброза [2]. Его интенсивность зависит от активности иммунных процессов, сопровождающих заболевание, однако их регуляция с помощью цитокинов имеет высокую внутреннюю сложность за счет многочисленных взаимосвязей разных цитокинов, их рецепторов и клеток-мишеней. По этой причине в настоящее время иммунопатогенез хронического гепатита В не является полностью изученным. Также мало данных о роли различных цитокинов в развитии фиброза при этом заболевании, особенно у пациентов со слабо выраженными клиническими проявлениями.

Целью настоящего исследования стал анализ содержания некоторых цитокинов/хемокинов в периферической крови больных ХГВ для поиска потенциальных биомаркеров начальных стадий фиброза печени.

Материалы и методы

Настоящее исследование было выполнено в лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. На проведение данного исследования было получено согласие Этического комитета ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, протокол № 3 от 22.11.2016.

Материалом исследования служила периферическая кровь. Образцы крови забирали в вакуумные пробирки с антикоагулянтom K₂ЭДТА, центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 мин для отделения плазмы. Плазму отбирали в пробирки типа Эппендорф, замораживали и хранили при t -80 °С.

В исследование были включены 30 пациентов (11 мужчин и 19 женщин) в возрасте 24-69 лет с подтвержденным диагнозом «ХГВ», без сопутствующих патологий. Все пациенты про-

ходили лечение в Клинической инфекционной больнице им. С.П. Боткина, являющейся клинической базой кафедры инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава РФ. Диагноз был подтвержден обнаружением в периферической крови пациентов серологических маркеров вируса гепатита В: HBsAg, анти-HBs IgG, анти-HBcIgG, HBeAg, анти-HBe IgG, наличием вирусной ДНК. Для определения стадии фиброза пациентам проводилась эластометрия печени. В настоящее исследование были включены пациенты с начальными стадиями фиброза печени (F0-F1 по шкале Metavir) и уровнем вирусной нагрузки менее 7000 копий/мл.

Группу сравнения составили 36 пациентов с диагнозом «хронический гепатит С» (ХГС) на ранних стадиях фиброза печени (F0-F1), проходивших лечение в этом же учреждении, сопоставимые по полу и возрасту с исследуемой группой. Диагноз был подтвержден обнаружением в периферической крови суммарных антител к вирусу гепатита С (анти-HCV) и выявлением РНК вируса в крови.

Контрольная группа включала 37 условно здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту с исследуемой группой, у которых отсутствовали какие-либо клинико-лабораторные и морфологические признаки поражения печени, а также инфекционные и соматические заболевания.

Проведение анализа

Концентрации цитокинов/хемокинов: IFN γ , TNF α , CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL11/I-TAC, CCL2/MCP-1, CCL8/MCP-2, CCL20/MIP-3 α определяли с помощью мультиплексного анализа по технологии xMAP (Luminex, США) с использованием тест-систем Milliplex MAG Human Cytokine/Chemokine Panel I, II, III (Millipore, США), основанных на магнитных микросферах Milliplex Mag, согласно инструкциям производителя. Регистрацию и анализ данных проводили на приборе Luminex MAGPIX (Luminex, США).

Статистическая обработка

Статистическую обработку осуществляли с применением программ GraphPad Prizm 6 и Statistica 8. Для построения деревьев решений использовали программу JMP 14. Информативность диагностических показателей определяли методом характеристического (ROC) анализа. Полученные данные не подчинялись нормальному распределению, поэтому для оценки выборок использовали методы непараметрической статистики, в том числе критерий Манна-Уитни, коэффициент корреляции Спирмена. Достоверными считались различия между группами при

$p < 0,01$. Результаты представлены в виде медианы (Me) и межквартильного размаха ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$).

Результаты

В результате проведенного анализа в периферической крови пациентов с хроническими вирусными гепатитами (ХВГ) и условно здоровых лиц выявлены достоверные различия в содержании цитокинов TNF α , CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CCL2/MCP-1, CCL8/MCP-2 и отсутствие достоверных различий в содержании цитокинов IFN γ , CXCL11/I-TAC и CCL20/MIP-3 α . Полученные результаты определения концентраций цитокинов/хемокинов представлены на рисунке 1.

В ходе настоящего исследования было показано, что концентрация TNF α в плазме крови больных ХВГ была повышена в 1,4 раза по сравнению с группой здоровых доноров (9,7 (6,9-13,6) пг/мл; 6,8 (5,9-8,6) пг/мл; $p = 0,0012$). Выявлены повышенные концентрации хемокинов: CXCL9/MIG – в 3,3 раза (1433,0 (700,3-2643,0) пг/мл; 441,1 (341,9-806,9); $p < 0,0001$), CXCL10/IP-10 – в 2,2 раза (405,7 (312,2-549,5) пг/мл по сравнению с 183,5 (112,9-254,7) пг/мл; $p < 0,0001$), CCL2/MCP-1-в 1,7 раза (249,5 (183,7-402,2) пг/мл; 143,7 (102,7-200,4) пг/мл; $p < 0,0001$); сниженное содержание – CCL8/MCP-2, в 1,6 раза (23,6 (17,8-37,4) пг/мл; 37,8 (29,9-44,3) пг/мл; $p = 0,0011$). Для хемокина CXCL11/I-TAC наблюдается тенденция к повышению: 110,8 (45,7-194,8) пг/мл по сравнению с 77,9 (57,7-124,2) пг/мл, $p = 0,4$ у здоровых доноров, а для CCL20/MIP-3 α – тенденция к снижению: 9,3 (7,7-17,4) пг/мл по сравнению с 12,9 (9,8-15,9) пг/мл, $p = 0,2$ у здоровых доноров. Концентрация IFN γ у пациентов с ХВГ с начальными стадиями фиброза не отличалась от таковой у здоровых доноров (4,8 (3,2-8,3) пг/мл; 5,1 (2,9-9,7) пг/мл).

Чтобы проанализировать взаимосвязи между исследованными цитокинами и хемокинами, был проведен корреляционный анализ между ними в группе больных ХВГ и в группе условно здоровых лиц. Значимые корреляции представлены в таблице 1.

Для цитокинов периферической крови у обследованной группы пациентов обнаружены корреляции между содержанием TNF α и хемокинов CCL2/MCP-1 и CCL8/MCP-2, чего не наблюдается в контрольной группе. В то же время в контрольной группе обнаружена корреляция между содержанием TNF α и хемокина CXCL9/MIG, что не выявлено в группе больных. Для обеих групп обнаружена корреляция между содержанием хемокинов CXCL9/MIG и CXCL10/IP-10.

Таким образом, у больных ХВГ F0-F1 выявлено пять цитокинов/хемокинов, значения которых

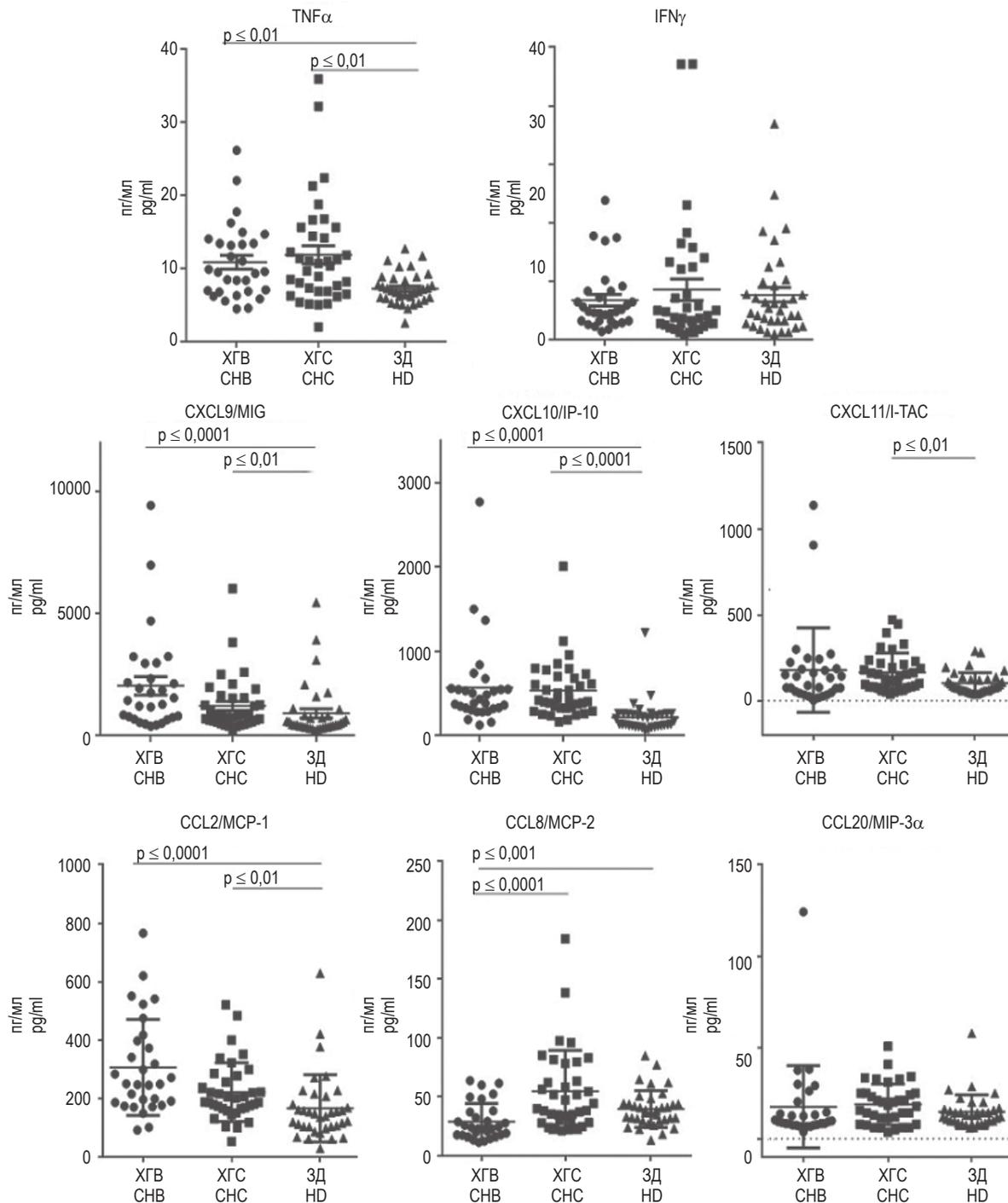


Рисунок 1. Концентрации некоторых цитокинов и хемокинов в периферической крови пациентов с ХГВ и ХГС со стадиями фиброза печени F0-F1 и здоровых доноров (ЗД)

Figure 1. Concentrations of certain cytokines and chemokines in the peripheral blood of patients with CHB and CHC with F0-F1 fibrosis stages and healthy donors (HD)

достоверно отличались от значений контрольной группы. Для того чтобы ответить на вопрос, являются ли эти цитокины специфичными для ХГВ, данные показатели сравнили со значениями у больных ХГС. Выявлено различие в содержании CCL8/MCP-2 в плазме крови с достоверностью $p < 0,0001$ и тенденция к увеличению кон-

центрации CCL2/MCP-1 и CXCL9/MIG в группе пациентов ХГВ по сравнению с ХГС с достоверностью $p < 0,05$. Для оценки возможности разделения пациентов ХГВ и ХГС на ранних стадиях фиброза по уровню хемокинов в плазме крови были построены ROC-кривые, представленные на рисунке 2.

ТАБЛИЦА 1. КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ИЗМЕРЕННЫХ ЦИТОКИНОВ И ХЕМОКИНОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ В И У ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

TABLE 1. CORRELATIONS OF MEASURED CYTOKINES AND CHEMOKINES IN PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS B AND IN HEALTHY DONORS

Цитокин/хемокин Cytokine/chemokine		ХГВ, r СНВ, r	p	Доноры, r Donors, r	p
TNF α	CCL2/MCP-1	0,75	< 0,0001	-	-
	CCL8/MCP-2	0,57	0,0011	-	-
	CXCL9/MIG	-	-	0,59	0,0001
CXCL9/MIG	CXCL10/IP-10	0,56	0,0014	0,57	0,0003

Примечание. r – коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Note. r - Spearman's rank correlation coefficient.

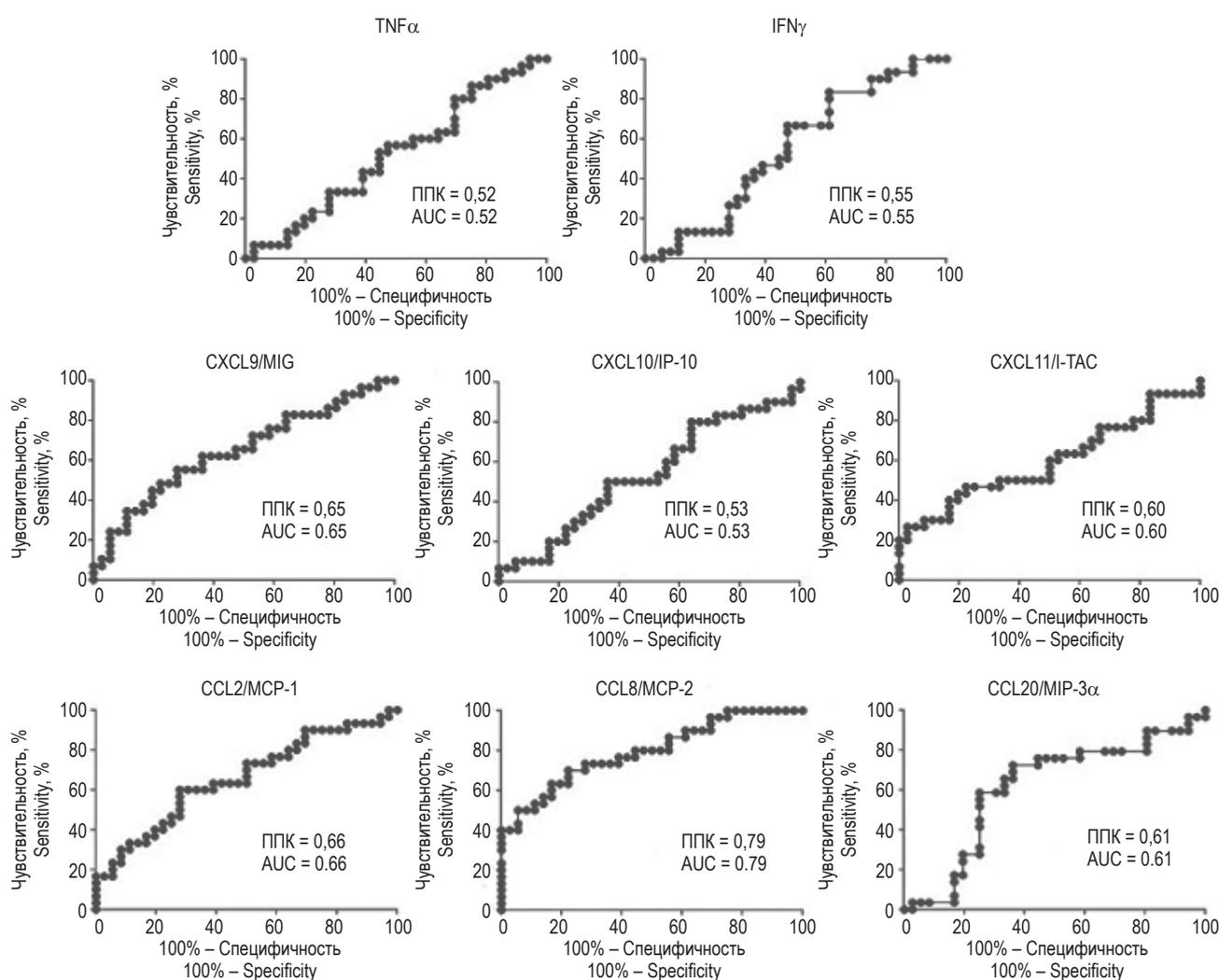


Рисунок 2. ROC-кривые, характеризующие зависимость чувствительности и специфичности исследованных цитокинов и хемокинов при сравнении групп пациентов со стадиями фиброза печени F0-F1, с указанием площади под кривой (AUC, area under ROC curve)

Figure 2. ROC-curves that characterize the dependence of the sensitivity and specificity of the studied cytokines and chemokines when comparing groups of patients with stages of liver fibrosis F0-F1, indicating the area under the curve

Результаты ROC-анализа показали, что ни один из цитокинов/хемокинов по отдельности не обладает достаточной специфичностью и чувствительностью, а максимальное значение площади под кривой выявляется для хемокина CCL8/MCP-2 и равно 0,79, однако не достигает порогового значения 0,8. Вследствие этого было принято решение оценить комбинацию цитокинов в качестве биомаркеров, способных охарактеризовать группы пациентов с ХГВ и ХГС на ранних стадиях фиброза. Для этого был применен метод многомерного статистического анализа данных деревьев решений. Полученный алгоритм дифференциальной диагностики причины начальной стадии фиброза печени при хронических вирусных гепатитах представлен на рисунке 3.

В результате анализа были получены следующие пороговые значения для дифференциации причины развития начальной формы фиброза между хроническим гепатитом В и хроническим гепатитом С: CCL2/MCP-1 – 245,3 пг/мл, CCL8/MCP-2 – 21,5 и 28,0 пг/мл, IFN γ – 2,5 пг/мл. Их использование позволяет достигнуть диагностической эффективности в 89,4%, что говорит о хорошем качестве выбранной модели.

Обсуждение

Обследованная группа больных ХГВ включала пациентов с низкой вирусной нагрузкой и мини-

мальной степенью повреждения печени, однако содержание TNF α в группе больных было повышено по сравнению с группой условно здоровых доноров, что свидетельствует об активации иммунных процессов.

Обнаруженная положительная корреляция TNF α и CCL2/MCP-1 ранее была описана при различных заболеваниях, например при раке простаты или при развитии постменопаузального остеопороза [13, 14]. Наличие у CCL2/MCP-1 двух эффектов – привлечение в очаг воспаления моноцитов и поляризация Т-хелперов от наивных к Т-хелперам второго типа посредством индукции синтеза IL-4 [14], – скорее, указывает на ведущую роль этого хемокина в первичном распознавании патогена и выборе варианта иммунного ответа. Следовательно, повышение CCL2/MCP-1 является маркером ранней активации иммунной системы, в то время как повышение TNF α – маркер уже сформированного ответа. В патогенезе хронической инфекции эти состояния тесно соседствуют, чем, возможно, объясняется обнаруженная корреляция.

Известно, что CCL8/MCP-2 является хемотаксическим фактором для моноцитов/макрофагов, Т-хелперов первого типа и натуральных киллеров. В плазме крови обследованной группы пациентов показано его снижение. Кроме других эффектов, он опосредует миграцию этих клеток в область желчных протоков и портальных

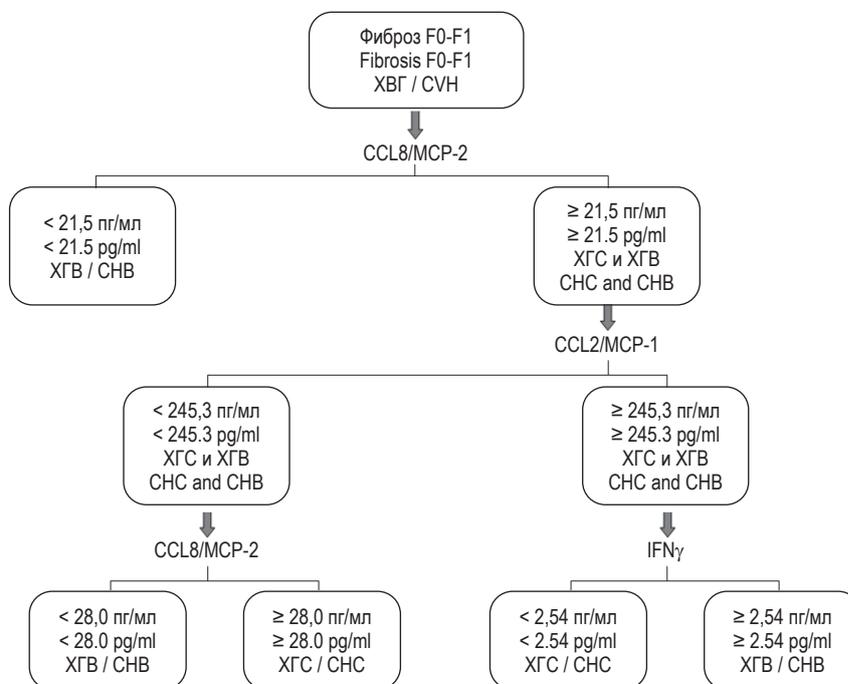


Рисунок 3. Алгоритм разделения пациентов с ХВГ на стадиях фиброза печени F0-F1 по содержанию цитокинов CCL2/MCP-1, CCL8/MCP-2 и IFN γ

Figure 3. Algorithm for separating patients with chronic viral hepatitis (CVH) at the stages of liver fibrosis F0-F1 by the content of cytokines CCL2/MCP-1, CCL8/MCP-2 and IFN γ

трактов при воспалении [2]. Можно предположить, что его пониженное содержание у больных ХГВ на ранних стадиях фиброза печени связано с действием иммуносупрессорных механизмов, препятствующих разрушению печени в стадии интеграции. С другой стороны, естественным антагонистом CCR3, одного из рецепторов CCL8/MCP-2, является хемокин CXCL11/I-TAC [11], концентрация которого была повышена у пациентов с ХГВ, что также может обуславливать снижение эффективности данного хемокина. При этом для CCL8/MCP-2 обнаружена положительная корреляция с уровнем TNF α .

Хемокин CCL20/MIP-3 α активирует миграцию незрелых дендритных клеток и Т-клеток памяти [9]. Ранее нами была установлена прямая связь между содержанием CCL20/MIP-3 α и тяжестью фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С [2]. В исследованной группе больных с ХГВ не обнаружено достоверных отклонений уровня этого хемокина, что может быть связано с отсутствием фиброза у этих пациентов.

Хемокины CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10 и CXCL11/I-TAC являются IFN γ -зависимыми [12]. В нашей работе эта взаимосвязь подтверждается выявленной положительной корреляцией их концентраций для группы условно здоровых доноров. Для группы пациентов наблюдается отсутствие корреляционных зависимостей между IFN γ и этими хемокинами. Концентрация IFN γ у пациентов не отличалась от значений контрольной группы, поэтому отсутствие указанных взаимосвязей может свидетельствовать о нарушении иммунных взаимодействий в результате иммуносупрессивного действия вируса и его антигенов.

Группа IFN γ -зависимых хемокинов CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10 и CXCL11/I-TAC опосредуют миграцию активированных клеток. Выделяемый дендритными клетками CXCL10/IP-10 привлекает Т-хелперы первого типа в лимфоузлы, а CXCL9/MIG, наоборот, – в очаг воспаления. При этом оба хемокина участвуют в привлечении в очаг воспаления активированных эффекторных клеток – цитотоксических Т-лимфоцитов и натуральных киллеров. У пациентов с ХГВ с фиброзом F0-F1 и низкой вирусной нагрузкой обнаружено отсутствие повышения IFN γ в сочетании с повышенными уровнями CXCL9/MIG и CXCL10/IP-10. Описанные в литературе свойства этих хемокинов позволяют предположить, что они участвуют в выборе типа иммунного ответа и его тонкой регуляции [1, 10]. Повышение содержания хемокинов CXCL9/MIG и CXCL10/IP-10 в плазме периферической крови указывает на активацию иммунных процессов,

тогда как другие признаки воспаления или повреждения печени выражены слабо. Ввиду того, что разрушение печени при ХГВ связано именно с активной деятельностью иммунной системы, эти хемокины могут выступать потенциальными маркерами прогрессирования развития фиброза.

В обследованной группе больных ХГВ не выявлено зависимости концентраций цитокинов и хемокинов в плазме крови от вирусной нагрузки, что может объясняться ее низким уровнем.

Ранее нами было показано увеличение концентраций TNF α , CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10 и CCL2/MCP-1 в плазме крови больных ХГВ [2], что также происходит при ХГВ. Сравнение уровней исследованных цитокинов у пациентов с ХГВ и ХГС выявило различие в содержании CCL8/MCP-2, а также тенденцию к увеличению концентрации CCL2/MCP-1 и CXCL9/MIG при ХГВ по сравнению с ХГС. Эти результаты указывают на возможные различия иммунных механизмов сдерживания активности вирусов гепатитов С и В. Несмотря на обнаруженные значимые отличия содержания хемокина CCL8/MCP-2 у пациентов с ХГВ и ХГС, площадь под ROC-кривой для него равна 0,79, что не позволяет достоверно разделить группы больных по этому параметру. Однако использование нескольких цитокинов (IFN γ , CCL2/MCP-1 и CCL8/MCP-2) позволяет построить дерево решений с диагностической эффективностью 89,4%.

Заключение

В результате проведенного исследования установлено, что у пациентов с диагнозом «хронический гепатит В» на ранних стадиях фиброза печени при низкой вирусной нагрузке, несмотря на отсутствие или слабое проявление клинических признаков заболевания, в плазме крови обнаружено повышенное содержание цитокина TNF α и хемокинов CCL2/MCP-1, CXCL9/MIG и CXCL10/IP-10 и пониженное – CCL8/MCP-2, что указывает на возможность использования указанных параметров в качестве биомаркеров повреждения печени при хроническом гепатите В.

На основании полученных данных разработан алгоритм, который позволяет дифференцировать в качестве причины развития начальной стадии фиброза печени (F0-F1) хронический гепатит В либо хронический гепатит С на основании определения уровня цитокинов IFN γ , CCL2/MCP-1 и CCL8/MCP-2 в плазме крови.

Список литературы / References

1. Арсентьева Н.А., Семенов А.В., Жебрун Д.А., Васильева Е.В., Тотолян Арег А. Роль хемокинового рецептора CXCR3 и его лигандов при некоторых иммунопатологических состояниях // Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 4. С. 617-632. [Arsentieva N.A., Semenov A.V., Zhebrun D.A., Vasilyeva E.V., Totolian Areg A. Role of CXCR3 chemokine receptor and its ligands in certain diseases. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2019, Vol. 21, no. 4, pp. 617-632. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-617-632.
2. Арсентьева Н.А., Семенов А.В., Любимова Н.Е., Басина В.В., Эсауленко Е.В., Козлов К.В., Жданов К.В., Тотолян Арег А. Содержание цитокинов и хемокинов в плазме крови больных хроническим вирусным гепатитом С // Российский иммунологический журнал, 2015. Т. 9 (18), № 1. С. 83-92. [Arsentyeva N.A., Semenov A.V., Lyubimov N.E., Basina V.V., Esaulenko E.V., Kozlov K.V., Zhdanov K.V., Totolian Areg A. Contents of cytokines and chemokines in blood plasma of patients with chronic viral hepatitis C. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2015, Vol. 9 (18), no. 1, pp. 83-92. (In Russ.)]
3. Демиденко Т.П., Неверов В.А.; под ред. Ю.В. Лобзина. Вирусные гепатиты: пособие для врачей. СПб., 2011. 229 с. [Demidenko T.P., Neverov V.A. Viral hepatitis: a guide for doctors. Ed. Yu.V. Lobzin]. St. Petersburg, 2011. 229 p.
4. Покровский В.И., Пак С.Г., Брико Н.И., Данилкин Б.К. Инфекционные болезни и эпидемиология: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 1008 с. [Pokrovsky V.I., Pak S.G., Briko N.I., Danilkin B.K. Infectious diseases and epidemiology: textbook]. Moscow: GEOTAR-Media, 2012. 1008 p.
5. Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Геворкян А.К. Неинвазивная диагностика фиброза и цирроза печени при хронических вирусных гепатитах (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика, 2016. Т. 61, № 4. С. 209-214. [Surkov A.N., Namazova-Baranova L.S., Gevorkyan A.K. Non-invasive diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis in chronic viral hepatitis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2016, Vol. 61, no. 4, pp. 209-214. (In Russ.)]
6. Ярилин А.А. Иммунология: учебник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 752 с. [Yarilin A.A. Immunology: textbook]. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 752 p.
7. Chen C.J., Yang H.I., Su J., Jen C.L., You S.L., Lu S.N., Huang G.T., Iloeje U.H., REVEAL-HBV Study Group. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA*, 2006, Vol. 295, no. 1, pp. 65-73.
8. Global Hepatitis Report 2017. Geneva: World Health Organization, 2017. Accessed August 14, 2019. Available at: <https://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/>.
9. Lee A.Y.S., Korner H. The CCR6-CCL20 axis in humoral immunity and T-B cell immunobiology. *Immunobiol.*, 2019, Vol. 224, no. 3, pp. 449-454.
10. Mah A.Y., Cooper M.A. Metabolic regulation of Natural Killer Cell IFN- γ production. *Crit. Rev. Immunol.*, 2016, Vol. 36, no. 2, pp. 131-147.
11. Metzemaekers M., Vanheule V., Janssens R., Struyf S., Proost P. Overview of the mechanisms that may contribute to the non-redundant activities of interferon-inducible CXC chemokine receptor 3 ligands. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 8, 1970. doi: 10.3389/fimmu.2017.01970.
12. van Raemdonck K., van den Steen P.E., Liekens S., van Damme J., Struyf S. CXCR3 ligands in disease and therapy. *Cytok. Gro. Fact. Rev.*, 2015, Vol. 26, no. 3, pp. 311-327.
13. Yang X.W., Wang X.S., Cheng F.B., Wang F., Wan L., Wang F., Huang H.X. Elevated CCL2/MCP-1 levels are related to disease severity in postmenopausal osteoporotic patients. *Clin. Lab.*, 2016, Vol. 62, no. 11, pp. 2173-2181.
14. Zhang J., Patel L., Pienta K.J. Targeting chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2) as an example of translation of cancer molecular biology to the clinic. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, 2010, Vol. 95, pp. 31-53.

Авторы:

Бацунов О.К. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»; старший лаборант кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Арсентьева Н.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Batsunov O.K., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology; Senior Laboratory Assistant, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Arsentieva N.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

Любимова Н.Е. — к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Россия

Эсауленко Е.В. — д.м.н., профессор, заведующая лабораторией вирусных гепатитов ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»; заведующая кафедрой инфекционных болезней взрослых и эпидемиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Семенов А.В. — д.б.н., заместитель директора по инновационной работе ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Тотolian Арег А. — д.м.н., профессор, академик РАН, директор ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера»; заведующий кафедрой иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Lyubimova N.E., PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Molecular Immunology, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

Esaulenko E.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Viral Hepatitis, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology; Head, Department of Adult Infectious Diseases and Epidemiology, St. Petersburg State Pediatric Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Semenov A.V., PhD, MD (Biology), Deputy Director for Innovation, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology; Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Totolian Areg A., PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Director, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology; Head, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 11.03.2019
Отправлена на доработку 06.04.2019
Принята к печати 11.03.2020

Received 11.03.2019
Revision received 06.04.2019
Accepted 11.03.2020