

РАЗВИТИЕ В ПОЗНАНИЯТА ЗА ХЕПАТИТ В-ВИРУСНАТА ИНФЕКЦИЯ ОСТЪР ВИРУСЕН ХЕПАТИТ В – ЕТИОЛОГИЧНИ И ПАТОГЕНЕТИЧНИ АСПЕКТИ

И. Балтаджиев, Н. Попиванова и О. Бойкинова

Катедра по инфекциозни болести, клинична паразитология и тропическа медицина,
Медицински университет – Пловдив

RECENT PROGRESS IN HEPATITIS B VIRAL INFECTION KNOWLEDGE ACUTE VIRAL HEPATITIS B. ETIOLOGICAL AND PATHOGENETICAL ASPECTS

I. Baltadzhiev, N. Popivanova and O. Boykinova

Department of Infectious Diseases, Clinical Parasitology and Tropical Medicine, Medical University – Plovdiv

<p>Резюме:</p> <p>Ключови думи:</p> <p>Адрес за кореспонденция:</p>	<p>Научните познания за HBV инфекцията акумулират постоянно, изменяйки погледа и поведението ни към заболяването и спомагайки за спечелване битката с тази инфекция и превентиране на нейните мрачни последици. Литературният обзор обхваща постиженията на научната мисъл по отношение на острия вирусен хепатит В и се спира на особеностите на HBV и вирусния репликационен цикъл, генотиповете и възникналите мутантни варианти. В патогенетичните аспекти на острата HBV инфекция се разглеждат особеностите на неспецифичния и специфичния клетъчен и хуморален имунен отговор, имунологичната памет и протективния имунитет. В имунопатогенезата на фулминантния В-вирусен хепатит се разкриват ролята на вирусните протеини, на CTL отговорите, ефектът на цитокините и механизмите на хепатоцелуларната апоптоза.</p> <p>остър вирусен хепатит В, вирусни протеини, генотипове, мутантни варианти, имунопатогенеза, нецитолитично потискане на вирусната репликация, фулминантен хепатит, цитокини, апоптоза</p> <p><i>Д-р И. Балтаджиев, Катедра по инфекциозни болести, клинична паразитология и тропическа медицина, МУ, бул. „Васил Априлов” № 15А, 4000 Пловдив</i></p>
<p>Summary:</p> <p>Key words:</p> <p>Address for correspondence:</p>	<p>The knowledge of HBV infection augments progressively, and changes our point of view towards the natural history of this infection. It contributes to the battle against the infection and to the prevention of its dangerous consequences. This review focuses on the acute viral hepatitis B recent scientific progress and points to the peculiarities in the HBV replication cycle, the viral genotypes and emerging viral mutants. The nonspecific and specific cellular and humoral immune responses, as well as the immunological memory and protective immunity are discussed. The role of viral proteins, CTL responses, the cytokine effects and liver cell apoptosis mechanisms in fulminant hepatitis B are presented.</p> <p>acute viral hepatitis B, HBV proteins, genotypes and viral mutants, immune response, non-cytolytic downregulation of viral replication, fulminant hepatitis B, cytokine effects, hepatocellular apoptosis</p> <p><i>I. Baltadzhiev, M. D., Department of Infectious Diseases, Clinical Parasitology and Tropical Medicine, Medical University, 15A, Vasil Aprilov Blvd., Bg – 4000 Plovdiv</i></p>

ВЪВЕДЕНИЕ

През изминалите 10-15 години се направиха забележителни крачки в детайлното разшифроване на етиологията, в разбирането на естествената история и патогенезата на хепатит В-вирусната (HBV) инфекция. В обзорния материал отразяваме този напредък с акцент върху етиологията и патогенезата на острия вирусен хепатит В (ОВХВ).

ЕТИОЛОГИЧНИ АСПЕКТИ НА HBV ИНФЕКЦИЯТА

Хепатитният вирус В е единственият DNA-вирус сред човешките хепатитни вируси. Принадлежи към род Orthohepadnavirus и е прототипен член на семейство Hepatotropic DNA viridae – Hepadnaviridae. HBV притежава частично двойно- и едноверижен DNA геном, затворен в икозаедрален нуклеокапсид от 27 nm в диаметър и заобиколен от гликопротеинова обвивка с 42 nm в диаметър, съдържаща три обвивъчни гликопротеина. Частично двойноверижният компактен DNA геном е твърде малък, с размери около 3.2 kb [45]. Този геном съдържа четири отчасти застъпващи се гена (open reading frames – ORFs): S, C, P и X, които кодират най-малко 8 протеина – главните структурни и неструктурни протеини на HBV: повърхностните протеини – HBs: Large (LHBs), Middle (MHBs), Small (SHBs), кодирани от S-гена (pre S/S регион); три сърцевинни протеина (preC, HBc, HBe), кодирани от C-гена (preC/C регион); два протеина Pol (polymerase) и HBx, кодирани от P- и X-гените респективно [41, 45]. Pol-протеинът функционира като обратна транскриптаза и като DNA полимераза. X-протеинът е potentен трансактиватор с роля в хепатокарциногенезата [13, 45].

Вирусен репликационен цикъл

Кардиналната особеност на хепатна-вирусния репликационен цикъл е репликацията на DNA генома чрез обратна транскрипция на една междинна RNA. HBV геномът представлява циркулярна DNA от 3200 нуклеотида, съставена от една негативна нишка по цялата дължина, плюс една по-къса позитивна нишка. 5'-краят на негативната нишка е ковалентно свързан с вирусната обратна транскриптаза, докато 5'-краят на позитивната нишка носи един олигорибонуклеотид [19, 20, 42]. След като се свържат с хепатоцитните повърхностни клетъчни рецептори (чиято идентичност остава неизвестна, въпреки множеството съобщени кандидат-рецептори) [4, 8, 13, 21, 30], HB-вирионите биват интернализирани чрез мембранна фузия. От цитозола на клетката нуклеокапсидите (core-частици) транс-

портират геномната HBV DNA до ядрото на хепатоцита, където формират ковалентно затворена циркулярна DNA (cccDNA). Тя служи като шаблон за транскрипция на 4 вирусни RNA, които биват експортирани в цитоплазмата и използвани като mRNA (messenger RNA) за продукция на HBV повърхностни, сърцевинни, полимеразни и X-протеини. Установено е, че процесите на транскрипция на вирусна mRNA се осъществяват чрез RNA полимераза-II на гостоприемника. Този ензим генерира серия от геномни и субгеномни транскрипти. Най-дългата (прегеномна) RNA също функционира като шаблон за HBV репликация, която настъпва в нуклеокапсидите в цитоплазмата. След това прогениторните вирусни капсиди се събират, инкорпорират геномната вирусна RNA. Тази RNA бива обратно преписана във вирусна DNA [13, 20]. Повечето от така получените HBV DNA- и полимеразно-съдържащи капсиди се излъчват в ендоплазмения ретикулум. Тук те придобиват гликопротеинова обвивка, съдържаща вирусните M, L и S повърхностни антигени и след като вирионите преминават през голджиевия комплекс, биват експортирани от клетката. Други нуклеокапсиди, носещи зрелия геном, могат да бъдат върнати в ядрото, където освобождават новогенерираните циркулярни DNA, за да формират допълнителни cccDNA, с цел поддържане на стабилен интрануклеарен пул от транскрипционни шаблони [11, 19, 27, 45].

HB вирусни антигени и протеини

По време на активната HBV репликация в кръвния серум на инфектираните пациенти излизат голямо количество вирусни частици в две форми: пълноценни вириони от 42-47 nm и празни сфери от 20-24 nm в диаметър. Последните съдържат само HBV повърхностен антиген и извлечени човешки липиди. Тези сфери надвишават броя на вирионите с фактор от 10^4 - 10^6 и представляват най-обилният S-протеин (24 kD), познат като HBsAg [19, 42]. Този антиген се продуцира от вируса в цитоплазмата на хепатоцитите в голямо количество и се разпръсква в кръвното русло като малки сфери и тубули от 22 nm, изцяло състоящи се от гликопротеини. Сред тях чрез електронна микроскопия се виждат по-големи сфери с 42 nm в диаметър, които представляват интактният вирус – частици на Dane. M-протеинът (или pre-S2) е с непозната функция, а на L-протеина (или pre-S1) се приписва ключова роля в свързването на вируса с клетъчните рецептори на гостоприемника [19, 45], както и в асамблиране на вирионите и тяхното излъчване от клетката. Precore/core-регионът кодира HBcAg и HBeAg.

Тези два протеина са отделени чрез алтернативна инициация на транслацията към два AUG кодона. Вътрешният AUG кодира 21 kD С-протеин (сог антиген) – структурен полипептид на вирусния капсид. Core-антигенът е открит в ядрата на хепатоцитите, но не и в кръвта. Антитела срещу него са доказани в кръвния серум. Срещуположният AUG дирижира продукцията на 24 kD pre-C-протеин. Пре-C-регионът кодира единствена секвенция, която насочва веригата в секреторна посока. Тъй като веригите пресичат голджиевия комплекс, разцепването от клетъчни протеази генерира HBeAg, един 16 kD фрагмент, който се секретира в кръвта [19, 45]. Разтворимият HBeAg, тясно свързан с несекреторния капсиден HBcAg, се появява в серума по време на високо-репликативната фаза на HBV инфекция и корелира с вiremията. HBeAg не играе роля в асамблиране на вируса и функциите на този антиген не са напълно ясни. Той не е необходим за вирусната репликация [19, 20, 21, 45]. Мутанти, носещи терминални лезии във веригата на пре-C-региона, се реплицират добре в културите и възникват често по време на естествена инфекция [19, 42]. Р-кодираният регион е специфичен за вирусната полимераза – мултифункционален ензим, въввлечен в синтеза на DNA и капсидирането на RNA. Вирусният Х протеин – HBx, модулира пренасянето на клетъчните сигнали и може директно или индиректно да засегне експресията на човешките или вирусни гени. Активността на Х-протеина е абсолютно необходима за *in vivo* репликацията и разпространението на вируса [11, 12, 19].

HBV серотипове и генотипове

Първоначално е установено базисното групиране на HBV серотипове: *adw*, *ayw*, *adr* и *ayr*, представляващи имунологичните особености на HBs като комбинация от общата детерминанта *a* с най-малко две взаимно изключващи се субдетерминанти *d* или *y* и *w* или *r*. Разкрити са девет серотипа (*ayw1*, *ayw2*, *ayw3*, *ayw4*, *ayr*, *adw2*, *adw4*, *adrq-*, *adrq+*). Те имат епидемиологично значение.

Чрез DNA секвениране е сложена основата на генетичната номенклатура на HBV, позволяваща по-точни проучвания на географското разпределение на HBV генотиповете. Тези генотипове не кореспондират директно с описаните серотипове [25, 41]. Въз основа на междугрупова дивергенция в нуклеотидните секвенции HBV е класифициран в осем различни генотипа (A-H), различаващи се най-малко с 8% от техния цялостен геном [8, 21]. Самите генотипове се подразделят на 24 субгенотипа, различаващи се един от друг

най-малко с 4% от цялостния геном. Субгенотипове при генотип *E* и *C* все още не са описани [44]. Разпределението на HBV генотиповете предпочита някои географски региони в света [29]. Генотиповете *A* и *D* са открити в целия свят, генотиповете *B* и *C* превалят в Азия, генотип *E* е регистриран в Африка, генотиповете *F* и *H* са намерени изключително в Централна и Южна Америка, докато генотип *G* е открит във Франция и Северна Америка. Фактът, че генотип *E* е обичаен в Западна Африка, но отсъства при американците с африкански произход от Венецуела и Бразилия, е дал основание да се мисли за по-скорошната му генеза [9, 10, 21]. Благодарение на детайлния анализ на HBV генома са разкрити рекомбинации между различните генотипове. Хибриди *B/C*, *C/D*, *A/D* са много чести в някои региони, но механизмите на рекомбинантните явления не са разгадани. Chu et al. смятат, че рекомбинации по време на репликация са малко вероятни, тъй като протича обратна транскрипция само на един RNA геном в капсида [16]. Ролята на HBV генотиповете във възникването и разпространението на мутации е значителна, но не винаги ясно определена [41]. Клиничното значение на HBV генотипове за изхода от чернодробните заболявания също е неясно, въпреки че са намерени клинични отлики между генотиповете *B* и *C* [28] и е допуснато, че генотип *A* е свързан с по-голям риск от хронифициране [36]. През 2006 г. японски учени са съобщили за значително нарастване на генотип *A* сред пациентите с ОВХВ. Филогенетичният анализ е разкрил, че почти всички HBV щамове от хомосексуални мъже са принадлежали не към африканския тип A1, а към западния тип A2. Авторите допускат, че това се дължи на промискуитета във високорисковите групи (Takeda, Y., *Infection* 2006; 34, 4:201-7). Проучвания са показали, че специфични HBV генотипове са асоциирани с по-висок отговор към антивирусна терапия или към спонтанна HBeAg сероконверсия [16, 25, 35, 40, 41]. След обстоен преглед на публикуваните бази данни Desmond et al. са дефинирали 44 HBV специфични HLA клас I и 32 HBV специфични HLA клас II рестриктирани епитопи, които са били идентифицирани във всички HBV гени. Мнозинството от HLA клас I рестриктираните епитопи са установени при HLA-A2-позитивни индивиди с остра HBV инфекция. Интересно е, че е съществувала значителна вариабилност в секвенциите на тези епитопи при и между различните HBV генотипове. Според авторите проучването на генотипните вариации в епитопите ще подпомогне развитието на нови имунотерапевтични стратегии срещу HBV (Desmond, C. P. *Antivir. Ther.*, 2008; 13(2):161-75). С

нарастване на научните познания диференцирането на HBV генотиповете би могло да обясни хетерогенността на болестните манифестации при остра и хронична HBV инфекция и да подпомогне нейното лечение [16, 46].

HBV мутантни варианти

HBV мутациите са относително нова и малко разработена сфера в хепатологията. Мутации възникват под влияние на естествения имунен отговор, ваксинация, антивирусна терапия или спонтанно. Промени в геномните регулаторни елементи дават възможност на HBV да избегне упражнявания селективен имунен натиск. Мутанти могат да съществуват едновременно с дивия тип HBV. Значението на такива смесени инфекции, както и клиничните последици са твърде малко изследвани. Възникването на мутантни варианти е по-характерно за хроничен, отколкото за ОВХВ, поради което ще се спрем на тях накратко:

- *Pre-C мутации.* Най-характерната им особеност е намалена или премахната продукция на pre-C-протеина и неговия секретирани продукт HBeAg. Pre-C мутации клинично са установени при болни с хроничен и фулминантен хепатит, но също и при асимптомни HBV носители и ОВХВ.

- *Core Promoter (E₁/C_p) мутации.* Синтезът на прегеномна и 5'-терминална pre-C-RNA е контролиран от E₁/C_p региона и мутации в него могат да повлияят съотношението на двата транскриптни класа [24]. Такива мутации са открити главно при агресивен ход на хепатит В и се изразяват в по-тежки чернодробни увреди и фулминантен хепатит [9, 16].

- *Core мутации:* Свързани са с увеличена HBV вирулентност:

- а) Субституции в критични HBs локуси:* Мутациите са сгрупирани в имунологично съответстващи епитопи и са по-многобройни при пациенти с активно чернодробно заболяване, отколкото при асимптомни носители.

- б) Делеции в HBs молекулата:* Вътрешните Сог-делеции (CID) могат да бъдат въввлечени в началото на ОВХВ и в изхода от хронична инфекция. CID са намерени при пациенти с дълготрайна HBeAg позитивна инфекция.

- *HBs мутации.* Най-честата ваксинаиндуцирана мутация е G145R и имунният натиск при ваксинация благоприятства нейната селекция [21].

- *Pre-S мутации.* Те нарушават интегритета на S-промотера и могат да включват делеции до 1/2 от целия Pre-S1 регион, но хепатоцитосвързващият сайт винаги остава запазен. Засягайки

съотношението на LHBs, MHBs и SHBs, Pre-S мутациите могат да доведат до акумулирането и задържането на тези протеини в ендоплазмения ретикулум с директен цитопатичен ефект в хепатоцитите и прогрес на чернодробното заболяване [10, 23].

- а) Полимеразни мутанти:* Тъй като S-генът напълно се припокрива от P-гена, Pre-S и S-мутациите засягат структурата на полимеразата.

- б) Мутации при антивирусна химиотерапия:* При терапия на HBV с нуклеозидни аналози е наблюдавано възникването на два класа от полимеразни мутации, които предизвикват преждевременен завършек на HBs протеините. HBV субтипът може значително да повлияе възникването на резистентност към Lamivudine [1, 30]. Някои мутации в C-домена придават резистентност към Famciclovir. Използването на високи дози не превентира мутациите. Резистентните вируси могат да останат чувствителни към по-новите нуклеозидни аналози Adefovir и Lobucavir [1, 14].

- *HBx мутации.* HBx протеинът участва в DNA структурата, генната трансактивация, интрацелуларната трансмисия, клетъчната пролиферация, и апоптозата. Тъй като X-генът припокрива E₁/C_p региона, точкови мутации и делеционни варианти в последния могат да повлияят структурата му, като продуцират скъсени HBx протеини. Такова скъсяване може да има ефект върху трансактивиращата способност на HBx протеина.

- *E₁X_p мутации.* E₁X_p регионът съдържа свързващи сайтове за много регулаторни клетъчни протеини, вкл. хепатоцит-нуклеарния фактор с неговото значение за стимулираните от INF отговори. E₁-мутацията може да служи като избягващ имуноелиминацията механизъм, превключващ вирусната репликация от висока към ниска степен при хроничен хепатит В.

Мутациите благоприятстват бързото приспособяване на HBV към променящата се околна среда. Те могат да доставят растежни предимства на вируса или да премахнат разпознаваеми от имунната система епитопи и да допринесат за хронифициране на заболяването [6, 7, 8, 21, 26, 45].

ПАТОГЕНЕТИЧНИ АСПЕКТИ НА HBV ИНФЕКЦИЯ

Още през 70-те и 80-те години на XX в. е установено е, че HBV не е цитопатичен и цитолизата се дължи на цитотоксичните Т-лимфоцити (CTL), сенсibiliзирани към един или повече вирусни антигени (*Dudley, Lancet, 1972, 1:723*). През 1981 г. е открито, че HBV DNA в хепатоцитите може да съществува като интегрирана

(двойноверижна, интрануклеарна) форма или като епизомална (свободна, циркулярна, с ниско молекулно тегло, едноверижна, вътрецитоплазмена) форма. И двете форми могат да съществуват в един и същи хепатоцит (*Shafritz, NEJM, 1981, 305:1067*). Счита се, че активната вирусна репликация е асоциирана предимно с епизомалната вирусна DNA, както е при случаите с ОБХВ и при краткотраен (1-2 г.) хроничен хепатит, докато ниската репликация е асоциирана с интегрираната DNA, както е наблюдавано при продължителен (6-8 г.) хроничен хепатит. (*Thomas et al., Hepatology, 1982, 2:116S-121S* и *Montano et al., Hepatology, 1983, 3:292-296*).

Въпреки че HBV се счита за нецитопатичен вирус, в много експериментални модели са описани индуцирани от хепаднавируси апоптоза и цитопатичен ефект [8]. Например *in vitro* и *in vivo* хепатит В-вирусният вариант на патиците е предизвиквал силен цитопатичен ефект, а нивото на вирусна репликация и формирането на ссс DNA е корелирало с цитопатичния ефект в инфектираните хепатоцити [32]. Било е показано, че интрацелуларното задържане на HBs-L протеините индуцира апоптоза в клетъчни линии [12], като в резултат на свръхекспресията на големия повърхностен антиген се е стигало до клетъчна вакуолизация и апоптоза на трансферирани хепатома клетки [18]. Установено е, че и HBx протеинът индуцира апоптоза чрез взаимодействие с ключовия регулатор на смърт-индуциращия сигнален комплекс [31, 47]. Установено е още, че вирусни варианти с две *stronger* мутации, асоциирани с фулминантен хепатит, индуцират апоптоза в първични Тирайа-хепатоцити. Тъй като индукцията на апоптоза е била независима от вирусната репликация, авторите стигат до извода, че синтезът на вирусни протеини е бил достатъчен за вирус-индуцираната смърт на хепатоцитите, а HBx протеинът е потенциалният кандидат, опосредстващ този ефект [9, 47]. Авторите отбелязват, че са необходими по-нататъшни изследвания, за да се изясни приносът на така индуцираната апоптоза за HBV чернодробни заболявания [9, 10].

Дългогодишни научни изследвания са били необходими за достигане до днешните познания за естествената история и разбиране патогенезата на вирусния хепатит тип В [19, 42]. В типичните случаи на остра HBV инфекция чрез PCR в циркуляцията може да се докаже HBV DNA. Тя остава откриваема в продължение на един месец от заразяването, но се намира в относително ниски стойности (10^2 - 10^4 геномни еквивалента/ml) до шест седмици, преди секретираният HBeAg и HBsAg да нараснат до своите върхови титри [43]. HbcAg специфични IgM се

появяват рано, а HbcAg специфични IgG персистират пожизнено независимо от изхода на инфекцията. Около 10-15 седмици след инфектиране серумните ALT стойности започват да се повишават, което е показателно за Т-клетъчно медирана чернодробна увреда. При експериментално инфектирани шимпанзета по-голямото количество HBV DNA в серума и в черния дроб може да бъде изчистено преди пиковите стойности на ALT [23, 43]. Над 90% от остро инфектираните възрастни пациенти преодоляват всички клинични симптоми, развиват HBeAg и HBsAg специфични антитела, очистват свободните HBeAg и HBsAg от циркуляцията и поддържат доживотен протективен имунитет. Въпреки пълното клинично оздравяване следи от HBV DNA персистират и биват контролирани от хуморалния и клетъчния имуноен отговор [43].

Вроден (неспецифичен) имуноен отговор

Установено е, че HBV не предизвиква доловими промени в експресията на интрахепатални гени и, изглежда, избягва индукцията на силен вроден имуноен отговор през първите седмици от инфектирането [49]. Въпреки това не може да се отрече роля на вродения имуноен отговор за контролиране на ранната HBV репликация, а експресията на гени на имунния отговор вероятно се появява под нивото на откриваемите количества [43]. Guidotti и съавт. са установили, че повечето HBV DNA може да бъде очистена от серума и от черния дроб на експериментално инфектирани шимпанзета преди откриваем придобит имуноен отговор в черния дроб [22, 24]. В трансгенни мишки с хромозомни, репликационно компетентни копия от HBV геноми в хепатоцитите е показан антивирусен ефект на интерферони от тип първи (INF- α , INF- β), което сочи, че вероятно индуцирани от INF механизми инхибират формирането на нови HBV капсиди, дестабилизируют съществуващите капсиди и деградират преформираната HBV RNA [38, 49]. Потискането на HBV репликацията вероятно е медирано от INF- γ , продуциран от активирани Т- и натурални килърни Т-(NKT) клетки [43].

Придобит (специфичен) клетъчен имуноен отговор

Специална роля в HBV инфекцията играе нецитолитичната регулация на вирусната репликация. В полза на това е фактът, че повечето HBV DNA количества могат да бъдат изчистени от черния дроб и от кръвта на експериментално инфектирани шимпанзета преди откриваема Т-клетъчна инфилтрация и чернодробна увреда, въпреки че клетките, които медираат тези ранни

антивирусни ефекти, все още не са идентифицирани при естествена инфекция. Обаче серии от проучвания, използващи трансгенни миши модели, са показали, че CD8+Т-клетките имат капацитета за нецитолитично изчистване на HBV от хепатоцитите [22]. Когато HbsAg специфични CD8+Т-клетки се прехвърлят на трансгенни мишки, тези Т-лимфоцити разпознават антигена, лизират известно число хепатоцити и продуцират цитокини, които потискат HBV-репликацията в черния дроб. Това потискане е директно свързано с продукцията на INF- γ от адаптивно трансферираните CD8+Т клетки. Изводът е направен при наблюдения, установяващи кога тези клетки са в дефицит на перфорин или CD95 лиганд (FAS лиганд) и кога реципиентните мишки не могат да произведат ендегенен INF- γ или не могат да отговорят на INF- α , INF- β и TNF [37]. Даже HBV неспецифични стимули и патогени могат да подтикнат INF- γ медираното потискане на HBV репликацията чрез активация на макрофагите, NKT клетките и HBV неспецифичните Т-клетки [43]. INF- γ увеличава индуцибелна нитрит-оксид синтаза (iNOS), което води до продукция на азотен оксид. Този механизъм, изглежда, играе есенциална роля в модела на трансгенни мишки, защото iNOS-дефицитни HBV трансгенни мишки са били резистентни към антивирусния ефект на INF- γ и TNF [23]. Важна помощ в това отношение са проведените проспективни изследвания на инфектирани с HBV шимпанзета [22]. Изчезването на HBV DNA от кръвта и черния дроб е последвано от повишена експресия на Т-клетъчни маркери в черния дроб, максимален CD4+ и CD8+ Т-клетъчен отговор в кръвта, пик на ALT стойностите в кръвния серум и сероконверсия към HBeAg и HBsAg специфични антитела [23, 43, 49].

Хуморален имунен отговор. HbsAg специфичните IgM са ранен маркер на инфекцията, докато антителата, специфични за HBeAg и HbsAg, се появяват късно и са свързани с благоприятен изход от инфекцията. HbsAg специфичните антитела са неутрализиращи и осъществяват протективен имунитет. HBeAg специфични IgG и HBsAg специфични антитела персistirат пожизнено след клинично оздравяване [43].

Имунологична памет и протективен имунитет

Оздравяването от ОВХВ е свързано с доживотен протективен имунитет, медиран от неутрализиращи HBsAg специфични антитела и от HBV специфични CD4+ и CD8+ Т-клетки. Въпреки това незначителни следи от HBV персistirат в кръвта на оздравелия пациент и са контролирани от клетъчния и хуморалния имунен отго-

вор. При клинично оздравелите индивиди, които са позитивни за HBsAg и HBeAg специфични антитела и са имunosупресирани по време на онкохимиотерапия, HBV може да се реактивира. Органи от донори, положителни за HBsAg специфични антитела, могат да предадат HBV на имunosупресирания реципиент. Репликативни форми на HBV са открити не само в черния дроб, но и екстрахепатално [20], което показва, че трудно достъпни за имунните клетки локализации могат да допринесат за персistirане на ниски количества HBV. Незабележими следи от персistirация вирус могат да бъдат много важни за поддържане на HBV специфичен имунитет при оздравели индивиди [42, 43]. Тази хипотеза е индиректно подкрепяна от наблюдения, че 3-5 години на ефективна антивирусна терапия значително редуцират или свеждат до недоловими количества HBV специфичните Т-клетъчни отговори при пациенти с хроничен хепатит [3, 39]. Това подкрепя тезата, че са необходими бустер ваксинации, за да поддържат ваксина-индуцирания HBsAg специфичен хуморален и клетъчен имунен отговор. Въпросът е дискуссионен, тъй като доставената чрез антиген-специфичните В- и Т-клетки имунологична памет е достатъчна за бърз отговор, даже кога то антителният титър е в неоткриваеми количества [2, 5, 6, 37].

ИМУНОПАТОГЕНЕЗА НА ФУЛМИНАНТНИЯ В-ВИРУСЕН ХЕПАТИТ (ФХВ)

ФХВ се характеризира с внезапно начало на тежка чернодробна деструкция, придружена от хепатална енцефалопатия при индивиди без предшестващи увреждания на черния дроб [34]. Фулминантната чернодробна недостатъчност (ФЧН) е клиничен синдром, при който настъпват масивни некрози на хепатоцитите, силно се влошават функциите на черния дроб, менталният статус на пациента и се развиват симптоми на многоорганна недостатъчност. Хепаталната енцефалопатия (ХЕ) е най-характерното следствие на ФЧН. Коагулопатията е не по-малко сериозно по тежест и значение последствие, дължащо се на смутен синтез на кръвосъсирващи фактори и провокирана от хепатоцитните некрози ДИК. Мозъчният оток е най-тежката компликация, особено в ранния етап на ФХВ. Това състояние е съпроводено с висока смъртност – повече от 50% от пациентите загиват. В развиващите се страни ОВХВ от самия HBV или като В-вирусна коинфекция е най-честата причина за ФХВ. Реактивация на вирусната репликация при неактивни носители на вирус-В може също да доведе до ФХВ. HBV индуцираните чернодроб-

ни увреди са резултат от сложни взаимодействия между вирусната репликация и човешката защита.

Роля на вирусните протеини

При пациентите с ФХВ често се срещат HBV pre-C мутации. Те могат да доведат до транскрипция на HBx протеин, който индуцира хепатоцитна апоптоза в ранния етап на инфекцията, правейки хепатоцитите твърде чувствителни към TNF [47]. Клетки, експресиращи вирусния core-протеин *in vitro*, са показвали повишена чувствителност към TNF, инхибирайки активацията на транскрипционния фактор NF- κ B, което също може да допринесе за апоптозна клетъчна смърт чрез Fas/Fas-ligand механизми. Счита се, че тежестта на ФЧН е свързана с броя на мутациите в core-promoter региона, усилващ вирусната репликация и в pre-C-гена, инхибиращ репликацията и даващ превес на "избягващите" мутанти над дивия HBV [9, 26]. Липсата на експресия на HBeAg при pre-C-мутациите се счита отговорна за загуба на толеранс към дивия вирус при HBV неактивните носители и може да ги доведе до ФХВ [46]. Акумулираните дълги HBs филamenti в ендоплазмения ретикулум хиперсенситивизират хепатоцитите към цитопатичния ефект на INF- γ [34].

Роля на CTL отговорите

Както при острия, така и при фулминантния хепатит вирусният клирънс се постига чрез директно разрушаване на инфектираните хепатоцити от MHC клас I рестриктираните CD8+ CTL [15]. Докато при хронично инфектираните пациенти CTL отговорът е слаб и тясно рестриктиран, при пациентите с фулминантен хепатит CTL отговорът е мощен, поликлонален и мултиспецифичен. Въпреки това той сам по-себе си не е достатъчен да предизвика масивната хепатоцитоза, характерна за ФХВ. Антиген-специфичните CTL иницират серия от имунни отговори, водещи до струпването на други инфламаторни клетки, които могат да извършат хепатоцитоза. CTL секретират INF- γ , който стимулира макрофагите към продукция на проинфламаторните цитокини TNF- α и IL-1, чието действие се влита в патогенезата на ФХВ [15, 34, 43].

Активация на макрофагите

Активирани инфилтриращи черния дроб макрофаги (M ϕ), заедно с повишения брой активирани купферови клетки, са класическа хистологична картина, имаща ключова роля в деструкцията на чернодробния паренхим при ФХВ. Паренхимна некроинфламация се постига благодарение

на отделяните от M ϕ цитокини и лизозомни ензими и от реактивни кислородни продукти, свободни радикали и имунни коагуланти. Цитокините водят до привличане на възпалителни клетки и специално неутрофили, с които са свързани много от системните ефекти на възпалителния процес. Свободните радикали водят до оксидативни DNA-увреди, а имунните коагуланти (тъканен фактор и fgl2-протромбиназа) разрушават микроциркулацията и водят до фибриноидна некроза [17, 34].

Ефект на цитокините

Натрупаните данни поддържат идеята, че ФЧН се дължи на отделяне на провъзпалителни цитокини, в резултат на което настъпва масивна некроинфламация с отпадане на компенсаторната хепатоцитна регенерация. Имунната защита на организма е дълбоко компрометирана [34]. При ФХВ настъпва локално и системно увеличение на цитокините, индуцирани от вирусната репликация и отделяни от инфилтриращите черния дроб мононуклеарни клетки. Счита се, че купферовите клетки са източник на проинфламаторните медиатори TNF- α , IL-1 и IL-6. Локалната продукция на TNF- α и INF- γ води до развитието на чернодробни некрози [15]. Други действия, упражнявани от локална цитокинова продукция, са: намеса в хепатоцитната регенерация, левкоцитна активация и инфилтрация, регулация на адхезионните молекули, апоптоза.

Хепатоцелуларна апоптоза

Хепатоцитната апоптоза – програмираната клетъчна смърт, предизвикана от имунния отговор към вирус-инфектираните клетки, играе важна роля в процесите на чернодробна увреда. В апоптозата е въввлечена фамилия от цистеин-протеази (caspases). Активацията на каспазите води до кондензация на хроматина, фрагментация на DNA, разкъсване на ядрената мембрана и формиране на апоптозни телца, които впоследствие се фагоцитират от макрофагите и резидентните купферови клетки. Хепатоцитната апоптоза има потенциала да доведе до фулминантен хепатит [50]. При последния се открива силна експресия на Fas и FasL в много хепатоцити и силно се увеличава нивото на експресия на TNF- α и неговия рецептор TNFR-1 [48]. FasL и TNF- α индуцираната апоптоза е опосредствена чрез Fas-свързан летален домен, активация на caspase-3 и финална цитоза на хепатоцитите [15, 34, 50].

Роля на коагулационната система

Коагулацията бива активирана от множество биоактивни субстанции – ендотоксини, цитоки-

ни, бактериални продукти и вируси. Тази активация води до продукция на фактори с проинфламаторен ефект – фибринопептиди, тромбин и др., в резултат на които се депозира фибрин, образуват се микроциркулаторни тромбози и акумулация на левкоцити. Прицел на тромбина и експресирания от мононуклеарните клетки тромбинов рецептор е синусоидалният ендотел. Следват активация на ендотелните клетки, секреция на цитокини, адхезия на левкоцити [38]. Макрофагите и ендотелните клетки продуцират имунни коагуланти, въввлечени в патогенезата на ФХВ [33].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Научните познания за HBV инфекцията акумулират прогресивно, променяйки схващанията ни за патогенезата, диагностиката, терапията и профилактиката на заболяването. Това развитие и обогатяване на познанията ще допринесе за финализиране битката на човечеството с HBV инфекцията и за превентиване на нейните мрачни последици – хроничен хепатит, чернодробна цироза и хепатоцелуларен карцином.

Библиография

1. Антонов, К. Нуклеоз(т)идно лечение на хроничен хепатит В. VIII нац. конгр. инфекц. болести, 2008, Abstr. Book, 50-51.
2. Балтаджиев, И., Й. Стоилова, Н. Попиванова и Х. Бацелова. Промени в заболяемостта от вирусен хепатит В (ВХВ) 1987-2006 г. VIII нац. конгр. инфекц. болести, 2008, Abstr. Book, 91-92.
3. Василев, М. и З. Кръстев. Дисбаланс между Т-хелперните субпопулации като причина за хроничното носителство и възпалението при хепатит В и С. – Съвр. мед., 48, 1997, № 1, 19-21.
4. Диков, И. Вирусен хепатит тип В. – В: Инфекциозни болести, 1997, 168-173.
5. Кожухарова, М., А. Курчатова и Н. Владимирова. Епидемиологична ефективност на програмата за масова имунизация на новородените в България срещу хепатит В. VIII нац. конгр. инфекц. болести, 2008, Abstr. Book, 42-44.
6. Кръстев, З. и Д. Желев. Хепатит В вирусната инфекция в България. VIII нац. конгр. инфекц. болести, 2008, Abstr. Book:19-22.
7. Мечков, Г. Вируси и хронични вирусни хепатити. София, 2001, 21-26.
8. Baumert, T. F. et H. E. Blum. Hepatitis B virus mutations: molecular biology and clinical relevance. – Vir. Hep. Rev., 2000, № 6, 177-192.
9. Baumert, T. F. et al. Hepatitis B virus mutations associated with fulminant hepatitis induce apoptosis in primary Tupaia hepatocytes. – Hepatology, 41, 2005, 247-256.
10. Baumert, T. F., R. Thimme et F. von Weizsacker. Pathogenesis of hepatitis B virus infection. – World J. Gastroenterol., 13, 2007, № 1, 82-90.
11. Beck, J. et M. Nassal. Hepatitis B virus replication. – World J. Gastroenterol., 13, 2007, 48-64.
12. Bruss, V. Revising the cytopathic effect of hepatitis B virus infection. – Hepatology, 36, 2002, 1327-1329.
13. Bruss, V. Hepatitis B virus morphogenesis. – World J. Gastroenterol., 13, 2007, 65-73.
14. Chang, M.-H. Hepatitis B virus infection. – Semin. Fetal Neonat. Med., 10, 2007, 1-8.
15. Chisari, F. V. Viruses, immunity and cancer: lessons from hepatitis B. – Am. J. Pathol., 156, 2000, 1117-1132.
16. Chu, C. J., M. Hussain et A. S. Lok. Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C. – Gastroenterology, 122, 2002, 1756-1162.
17. Ding, J. W. et al. Fulminant hepatic failure in murine hepatitis virus strain 3 infection: tissue-specific expression of a novel fgl2 prothrombinase. – J. Virol., 71, 1997, 9223-9230.
18. Foo, N. C. et al. Cellular vacuolization and apoptosis induced by hepatitis B virus large surface protein. – Hepatology, 36, 2002, 1400-1407.
19. Ganem, D. et R. J. Schneider. Hepadnaviridae: the viruses and their replication. – In: Fields Virology. Knipe&Howley (Eds.), 2001, № 2, 2923-2969.
20. Ganem, D. et A. M. Prince. Hepatitis B virus infection – natural history and clinical consequences. – N. Engl. J. Med., 350, 2004, 1118-1129.
21. Glebe, D. Recent advances in hepatitis B virus research: a German point of view. – World J. Gastroenterol., 13, 2007, № 1, 8-13.
22. Guidotti, L. G. et al. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. – Science, 284, 1999, 825-829.
23. Guidotti, L. G. et al. Nitric oxide inhibits hepatitis B virus replication in the livers of transgenic mice. – J. Exp. Med., 191, 2000, 1247-1252.
24. Guidotti, L. G. et F. V. Chisari. Noncytolytic control of viral infection by the innate and adaptive immune response. – Ann. Rev. Immunol., 19, 2001, 65-91.
25. Han, S.-H. B. Natural course, treatment options and economic evaluation of therapies for chronic hepatitis B. – Drugs, 66, 2006, № 14, 1831-1851.
26. Hasegawa, K. et al. Enhanced replication of hepatitis B virus mutant associated with an epidemic of fulminant hepatitis. – J. Virol., 68, 1994, 1651-1659.
27. Kann, M., A. Schmitz et B. Rabe. Intracellular transport of hepatitis B virus. – World J. Gastroenterol., 13, 2007, 39-47.
28. Kao, J. H. et al. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. – Gastroenterology, 118, 2000, 554-559.
29. Kidd-Ljunggren, K., Y. Miyakawa et A. H. Kidd. Genetic variability in hepatitis B viruses. – J. Gen. Virol., 83, 2002, № 6, 1267-1280.
30. Klimngmuller, U. et H. Schaller. Hepadnavirus infection requires interaction between the viral pre-S domain and a specific hepatocellular receptor. – J. Virol., 67, 1993, 7414-7422.
31. Kim, K. H. et B. L. Seong. Pro-apoptotic function of HBV X protein is mediated by interaction with c-FLIP and enhancement of death-inducing signal. – EMBO J., 22, 2003, 2104-2116.
32. Lenhoff, R. J. et al. Acute liver injury following infection with a cytopathic strain of duck hepatitis B virus. – Hepatology, 29, 1999, 563-571.
33. Levy, G. A. Molecular and functional analysis of the human prothrombinase gene (HFGL2) and its role in viral hepatitis. – Am. J. Pathol., 156, 2000, 1217-1225.
34. Liu, M. et al. Fulminant viral hepatitis: molecular and cellular basis and clinical implications. – Exp. Rev. Mol. Med., 2001, № 3, 1-19.
35. Lok, A. S. et B. J. McMahon. Chronic hepatitis B. – Hepatology, 34, 2001, 1225-1241.
36. Mayerat, C., A. Mantegani et P. C. Frei. Does hepatitis B virus (HBV) genotype influence the clinical outcome of HBV infection? – J. Viral. Hepat., 1999, № 6, 299-304.

37. McClary, H. et al. Relative sensitivity of hepatitis B virus and other hepatotropic viruses to the antiviral effect of cytokines. – J. Virol., 74, 2000, 2255-2264.
38. McGilvary, I. D. et O. D. Rotstein. The role of coagulation in systemic inflammation: a review of the experimental evidence. – Sepsis, 1999, № 2, 179-206.
39. Mizukoshi, E. et al. Cellular immune response to the hepatitis B virus polymerase. – J. Immunol., 173, 2004, 5863-5871.
40. Naumov, N. et al. Genomic variations in the hepatitis B core gene: a possible factor influencing response to interferon alfa treatment. – Gastroenterology, 108, 1995, 505-514.
41. Pumpens, P., E. Grens et M. Nassal. Molecular epidemiology and immunology of hepatitis B virus infection – an update. – Intervirology, 45, 2002, 218-232.
42. Rehermann, B. Intrahepatic T cells in hepatitis B: viral control versus liver cell injury. – J. Exp. Med., 191, 2000, № 8, 1263-1268.
43. Rehermann, B. et M. Nascimbeni. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. – Nature Rev. Immunol., 2005, № 5, 215-229.
44. Schaefer, S. Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genomes. – World J. Gastroenterol., 13, 2007, 14-21.
45. Seeger, C. et W. Mason. Hepatitis B virus biology. – Microbiol. Mol. Biol. Rev., 64, 2000, 51-68.
46. Sterneck, M. et al. Functional analysis of HBV genomes from patients with fulminant hepatitis. – Hepatology, 28, 1998, 1390-1397.
47. Su, F. et R. J. Schneider. Hepatitis B virus HBx protein sensitizes cells to apoptotic killing by tumor necrosis factor alpha. – Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, 1997, 8744-8749.
48. Tokushige, K. et al. Significance of soluble TNF receptor 1 in acute type fulminant hepatitis. – Am. J. Gastroenterol., 95, 2000, 2040-2046.
49. Wieland, S. et al. Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. – Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 101, 2004, 6669-6674.
50. Zhang, H. et al. Reduction of liver Fas expression by an antisense oligonucleotide protects mice from fulminant hepatitis. – Nat. Biotechnol., 18, 2000, 862-867.

Постъпил за печат на 30 юни 2008 г.



ЦЕНТРАЛНА МЕДИЦИНСКА БИБЛИОТЕКА
Отдел Научна медицинска информация

ПРЕДЛАГА

СТИЛОВА РЕДАКЦИЯ
КОРЕКЦИЯ
И ФОРМАТИРАНЕ
НА МЕДИЦИНСКИ ТЕКСТОВЕ

ХУДОЖЕСТВЕНО И ТЕХНИЧЕСКО ОФОРМЛЕНИЕ
ИЗРАБОТВАНЕ НА ПОСТЕРИ И ПРЕЗЕНТАЦИИ

Централна медицинска библиотека
1431 София, ул. "Св. Г. Софийски" № 1
тел./факс 952 23 93, 92301 423