

Aspecte noi în imunopatogeneza hepatitei cronice virale B

E. Chirvas, Iu. Lupașco

Laboratory of Gastroenterology, Clinic No 4, Nicolae Testemitanu State Medical and Pharmaceutical University
29, N. Testemitanu Street, Chisinau, Republic of Moldova

Corresponding author: +37322205539. E-mail:helenau.76@mail.ru

Manuscript received August 06, 2010; revised May 2703, 2011

New Aspects in the Immunopathogenesis of Chronic Hepatitis B

Successful clearance and resolution of infection depends on the age and immune status of the individual with most infections of immunocompetent adults being self-limiting. Persistent or chronic infection is more likely to occur following vertical transmission (from mother to child) or horizontal transmission to children or to immunocompromised adults. The immune determinants of successful clearance of HBV are not fully understood but both cellular and humoral immune responses are important. At the same time, however, liver inflammation and disease are also believed to be largely immune-mediated. Therefore, a complex interaction exists between HBV and the host in the initial clearance of HBV, the long-term persistence of HBV and the pathogenesis of HBV liver disease. There are some mechanisms of HBV-suppressing effect on immune response parts: exhaustion of virus-specific CTL functional activity as a result of persistence of high concentrations of viral antigens; elevation of activity of regulatory T-cells; ability HBV to exist in the form of sustained endocellular template – *covalently closed circular DNA* (ccc DNA). The role of activated platelets in immunopathological reactions is also considered at chronic viral liver damage.

Key words: viral hepatitis B, innate immunodefence, adaptive immunodefence.

Новые аспекты в иммунопатогенезе хронического гепатита В

Успех элиминации и разрешения вирусной инфекции гепатита В зависит от возраста и иммунного статуса больного. Персистирование хронической инфекции чаще передаётся вертикальным путём (от матери к ребёнку) или горизонтальной трансмиссией у детей, или у иммунокомпромированных взрослых. Иммунные детерминанты успешной элиминации вирусной инфекции гепатита В недостаточно исследованы, но следует отметить важность как гуморального, так и клеточного иммунного ответа. Вместе с тем считается, что воспалительный процесс в печёночной паренхиме в большей мере опосредован иммунологически. Известен факт, что существует комплексное взаимодействие между HBV и хозяином в начале фазы элиминации HBV при длительном персистировании HBV и в патогенезе воспалительного процесса печени. Существует несколько механизмов подавляющего влияния HBV на звенья иммунного ответа: истощение функциональной активности вирусоспецифических CTL в результате персистенции высоких вирусных антигенов; повышение активности регуляторных Т-клеток; способность HBV к существованию в форме устойчивой внутриклеточной матрицы – ковалентной замкнутой циркулярной ДНК (ccc ДНК). Рассматривается также роль активированных тромбоцитов в иммунопатологических реакциях при хроническом повреждении печени.

Ключевые слова: вирусный гепатит В, врождённый иммунитет, адаптивный иммунитет.

Introducere

Virusul hepatitei B (HBV) în organismul uman poate dezvolta hepatita acută sau cronică, ciroza hepatică sau carcinomul hepatocelular. Peste 350 de mln persoane infectate cu HBV prezintă o sursă de răspândire a infecției pe cale orizontală și verticală [1]. Manifestările clinice și evoluția infecției HBV sunt mediate de interacțiunile complexe dintre virus și răspunsul imun al gazdei. Virusul HBV nu este direct citopatic asupra hepatocitelor, dar interacțiunea dintre virus și răspunsul imun joacă un rol central în patogeneza necroinflamăției și fibrozei hepatice [6]. Rolul principal în dezvoltarea răspunsului imun în infecția HBV le aparține reacțiilor sistemului imun adaptiv (dobândit), care stau la baza patogenezei afectării hepatice și clearance-ului HBV [1].

Importanța majoră în afectarea ficatului și evoluția HBV-infecției le aparține limfocitelor citotoxice specifice (CTL). Persistența HBV reflectă incapacitatea CTL de a asigura un răspuns imun adecvat și conduce spre dezvoltarea procesului inflamator-necrotic în ficat, cu formarea ulterioară a cirozei hepatice și/sau carcinomului hepatocelular [1].

Carcinomul hepatocelular în majoritatea cazurilor este diagnosticat la pacienții cu hepatită cronică B pe fundalul unei inflamații, care decurge lent în ficat și a distrucției minimale în hepatocite. O astfel de inflamație este menținută de CTL virusspecifice funcțional deficitare, incapabile de-a asigura clearance-ul virusului HBV din hepatocite. Astfel, afectarea cronică a hepatocitelor de către virusul hepatitei B este privită ca un proces potențial precanceros în rezultatul dereglării balanței dintre regenerarea hepatocitelor (sinteza ADN celular) și inflamație (producerea mutagenelor) [1].

Procesul prelungit de regenerare și inflamație în ficat poate conduce la apariția tulburărilor genetice/cromozomiale, spon-tane și multiple, răspunzătoare de dezvoltarea carcinomului hepatocelular [1].

Imunopatogeneza hepatitei cronice virale B

Răspunsul gazdei contra virusului se realizează printr-un complex de interacțiuni celulare. Inițial răspunsul este non-specific și include sistemul de interferoni, killeri naturali și activarea non-specifică a celulelor Kupffer. După acest răspuns non-specific, răspunsul imun direcționat specific împotriva proteinelor virale devine important. Două arme

majore ale sistemului imun sunt: arma umorală, care constă din B-limfocite ce produc anticorpi și arma celulară, care este compusă din variate tipuri celulare, incluzând macrofagii și T-limfocitele (fig.1). Celulele dendritice constituie un grup heterogen de celule antigen-prezentatoare, care constituie puntea de legătură dintre agenții patogeni și sistemul T-celular [9]. APCs (celulele prezentatoare de antigen) numite astfel celulele Kupffer și, în special, DCs (celulele dendritice) sunt implicate în prezentarea și maturizarea celulelor-T HBV-specifice, principalii efectori ai clearance-ului HBV. APCs prezintă antigenul celulelor-T CD4+ și CD8+ și produc citokine, IL-12 și TNF- α , care induc producerea IFN- γ și proliferarea celulelor CD8+. IL-12 induce de asemenea diferențierea celulelor-T CD4+ în celule T-helper de tip 1(Th1) [7].

Există câteva mecanisme de acțiune supresivă a infecției virale B asupra verigilor sistemului imun: epuizarea activității funcționale a limfocitelor citotoxice (CTL) virusspecifice, în rezultatul persistenței concentrațiilor înalte de antigene virale; creșterea activității celulelor-T reglatoare; capacitatea virusului HBV de a exista sub forma unei matrice intracelulare stabile – ADN circular închis covalent (ccc ADN). Se menționează și rolul trombocitelor activate în reacțiile imunopatologice în cadrul afectării virale hepatice [1]. Reieșind din studiile imunopatogenetice recente pe modele de animale și studii *in vitro* prin biopsii hepatice la pacienții cu HBV, s-a demonstrat un potențial important al interacțiunii dintre antigenul hepatic Be și componentele răspunsului imun ereditar, precum *Toll-like receptors*, celulele Kupffer, killerii naturali (*natural killer T-cells*) și celulele dendritice. Aceste date sugerează ideea precum că răspunsul imun ereditar are de asemenea un rol major în influența consecințelor infecției HBV acute și cronice asupra organismului [6].

Inițial recunoașterea infecției HBV poate fi mediată de *Toll-like receptors* (TLRs) [3, 8]. *Toll-like receptors* fac parte din PRRs (*pattern recognition receptors*). PRRs sunt un grup de receptori, care includ TLRs (*Toll-like receptors*), *nucleotide-binding oligomerization domain leucine-rich repeat proteins*, *peptidoglycan recognition proteins*, *caspase recruitment domain-helicase proteins*, *mannose-binding lectins* (MBLs) [6].

PRRs sunt expresați pe numeroase celule efectorii ale sistemului imun ereditar. Odată ce PRR identifică pattern-ul molecular patogen-asociat, celulele efectorii inițiază imediat funcția lor [6].

TLRs au fost identificate pe numeroase tipuri de celule, inclusiv intestinale, endoteliale și renale. Stimularea TLRs prin liganzii săi inițiază activarea complexului de rețele de căi de transducere a semnalului intracelular, care coordonează ulterior răspunsul inflamator (fig. 2).

Această rețea include: adaptorul protein MyD88, protein kinases (*IL-1 receptor-associated kinase*, *p 38 mitogen-activated protein kinase*, *TNF receptor-associated kinase*) și transcripția factorului NF- κ B (*nuclear factor kappa B*). Activarea NF- κ B duce la expresia diferitor mediatori proinflamatori precum TNF- α , IL-1, IL-6 și *monocyte chemoattractant protein* [6].

TLRs participă la recunoașterea virală prin intermediul sistemului imun ereditar. Răspunsul gazdei împotriva viru-

sului implică inducerea IFNs de tipul 1 (IFN- α , - β și - γ), care duc la creșterea expresiei și activării genelor IFN-stimulante. Inducerea genelor IFN-stimulante (care includ *protein kinase receptor*, IFNs, *IFN regulatory factors*) realizează răspunsuri antivirale, antiproliferative și imunoreglatoare [6].

În pofida faptului că cea mai caracteristică particularitate imunologică a infecției HBV cronice este diminuarea răspunsului celulelor-T CD8+ și CD4+ HBV-specific, există susținerea conceptului, precum că sistemul imun ereditar (*innate immune system*) este implicat de asemenea în această fază a bolii.

Această dovadă include descreșterea regulării PRRs (*down-regulation*), potențialul rol al celulelor dendritice în inducerea toleranței T-celulare HBV-specifice și rolul NK-celulelor în afectarea hepatocitelor.

În modelul șobolanului HBV-transgenic, administrarea liganzilor specifici pentru TLR4, 5, 7 și 9 rezultă inhibiția semnificativă a replicării virale. Aceasta a avut loc în decurs de 24 de ore într-o manieră IFN-dependentă [6]. Studiile recente demonstrează o scădere a regulării TLR2 de pe hepatocite, celulele Kupffer și monocitele din sângele periferic la pacienții HBeAg pozitivi, în comparație cu pacienții HBeAg-negativi și grupul de control sănătos. La pacienții cu hepatita activă HBeAg-negativi există o creștere a regulării TLR2 și conectarea secreției TNF- α [6]. Efectul de diminuare a regulării TLR2 a fost confirmat prin studii *in vitro*, folosind celulele hepatice și monocitele CD14+. Alte rapoarte demonstrează, că HBeAg inhibă expresia lipopolysaccharid-indusă a ciclooxigenazei-2 și, de asemenea, reduce producerea de IL-12 și IL-18 prin blocarea kinazelor extracelulare semnal-reglatoare (*extracellular signal-regulated kinase*) și a căii NF- κ B, de asemenea și regularea producerii IFN [6]. Aceste date sugerează proprietatea antigenelor HBV specifice țintite TLRs să scape de recunoașterea imună.

MBL (*mannose-binding lectin*), o lectină tip C calciu-dependentă cu structură analogică, cu componentul complementului C1q, de asemenea funcționează ca o moleculă PRR a sistemului imun ereditar, unindu-se cu suprafața microbiană. MBL este capabilă să activeze sistemul complementului prin intermediul proteazelor sau să acționeze ca o opsonină, care intensifică fagocitoza. Nivelul seric al MBL, de asemenea, joacă un rol în regularea citokinelor inflamatorii precum IL-6, IL-1 β și TNF- α în răspunsul patogenic.

Doă studii recente au raportat despre rolul MBL și polimorfismul genelor sale (*mbl 2*) la pacienții cu hepatită cronică B [6]. Ambele studii au stabilit, că pacienții cu genotipuri asociate cu niveluri scăzute de MBL în ser probabil au putut mai bine să demonstreze persistența virală, progresia fibrozei și dezvoltarea carcinomului hepatocelular. Purtătorii HBV fără progresia afecțiunii hepatice și cei ce s-au însănătoșit spontan nu arată diferență în nivelurile MBL sau polimorfisme *mbl 2*, comparativ cu lotul de control sănătos. Experimentele *in vitro* de asemenea demonstrează, că MBL poate lega HBeAg într-o manieră doză-dependentă, calciu-dependentă, o interacțiune care, de asemenea, crește depozitarea C4 [6].

Clearance-ul viral este mediat prin distrugerea celulelor infectate de către limfocitele T citotoxice antigen-specifice (CTLs).

CTLs posedă potențial citopatic și curativ. Autorii relatează, că lezarea hepatică este mediată de celulele inflamatorii nespecifice recrutate (atruse) de CTL, probabil prin eliberarea interferon- γ -mediată a citokinelor hemotactice și inflamatorii.

CTL activate și citokinele secretate de ele pot deregla expresia genelor HBV și replicarea prin mecanisme de inactivare intracelulară non-citotoxică, incluzând degradarea ARN viral și, probabil, degradarea nucleocapsidelor virale și DNA replicativ fără distrugerea celulelor [9].

Acest proces este mediat de IFN- γ și TNF α , secretați de către CTL după recunoașterea antigenului fără calea semnalelor Fas-dependente sau perforin-dependente. Aceste rezultate sugerează că diferite populații de celule inflamatorii pot fi responsabile de clearance-ul viral precoce și patogeniza virală tardivă în infecția HBV.

Celulele-T prin intermediul receptorilor (TCRs) recunosc antigenul procesat, prezentat fiind cu ajutorul moleculelor MHC. Celulele-T citotoxice CD8+ recunosc antigenul procesat, prezentat prin intermediul moleculelor MHC clasa I și distrug celulele infectate, prevenind replicarea virală. Într-o oarecare măsură virusurile procesate sunt imediat susceptibile la efectul anticorpilor. Paralel cu distrugerea directă a celulelor infectate, celulele-T CD8+ de asemenea produc câteva citokine, incluzând *tumour necrosis factor- α* (TNF- α) și limfotoxina. Interferonul- γ , un alt produs al celulelor-T CD8+, intensifică apărarea antivirală cu ajutorul celulelor adiacente rezistente la infecție. T-limfocitele CD4+ recunosc antigenul procesat, prezentat fiind prin intermediul moleculelor MHC, clasa II. T-celulele helper de tip 1 (Th1) secretă interferonul- γ , IL-2, iar T-helper de tip 2 (Th2) secretă IL-4, 5 și 6.

Studiile anterioare în infecția HBV acută simptomatică arată un răspuns viguros policlonal multispecific CTL clasa I, restricționat către toate proteinele HBV [9].

De asemenea, un viguros CD4+ T-helper răspuns HLA-clasa II restricționat, către multipli epitopi din nucleocapsida HBV, HBcAg și HBeAg, este detectat în sângele periferic al pacienților cu hepatite acute de sinestătător limitate, pe când răspunsul HLA clasa II, restricționat specific către HbsAg, este mai puțin viguros.

Dezvoltarea unui răspuns CD4 MHC clasa II, restricționat către *core* este temporar asociat cu clearance-ul HBV în ser și este, probabil, esențial pentru un control eficient al viremiei. Acest răspuns CD4+ *core* specific exercită efectul său prin producerea Th1-citokinelor (în hepatita acută de sinestătător limitată), dominantă fiind producerea IFN- γ , ceea ce sugerează că efectele Th1-mediate ar contribui la lezarea celulară a ficatului și la însănătoșire [9].

În timpul infecției HBV cronice, răspunsul T-celular HLA, clasa II în sângele periferic către toți antigenii virali, inclusiv HBcAg și HBeAg, este mai puțin viguros decât la pacienții cu hepatite acute [9].

Răspunsul T-celular specific către nucleocapside pare să fie accentuat în timpul exacerbărilor acute ale bolii, care

poate deseori să fie precedat de creșterea concentrațiilor DNA HBV și HBeAg.

Clonele T-celulare din ficat la persoanele cronice HBV, stimulate cu mitogen, produc predominant un răspuns citokinic de tip 2 [9].

Trei forme structurale ale proteinelor virale HBsAg, HBcAg și HBeAg pot obține diferite subseturi de celule Th. HBeAg induce răspuns imun celular Th2 la șobolani [5], în timp ce HBcAg induce răspuns imun celular Th1. S-a demonstrat că dozele mici de virus sunt abile să inducă un răspuns citotoxic T-limfocitar Th1-mediat, în timp ce dozele înalte de virus induc răspuns non-protectiv umoral Th2-mediat [5].

În contrast cu infecția HBV acută de sinestătător limitată, răspunsul CTL periferic la pacienții cronic infectați este dificil de detectat [9]. S-a constatat că pacienții cronic infectați, care au obținut o remisie spontană sau interferon-indusă dezvoltă un răspuns CTL către HBV, similar pacienților, care s-au însănătoșit după hepatita acută [9]. Rezultatele sugerează, că intensificarea imunoterapeutică specifică a răspunsului CTL contra HBV poate fi posibilă la pacienții cronici infectați și că aceasta poate duce la clearance-ul viral la acești pacienți cu rezoluția maladiei cronice hepatice.

CTLs HBV-specifice au fost detectate într-o proporție mică în ficat la pacienții cronic infectați, posibil contribuind la inflamația cronică, dar insuficiente pentru eliminarea virală [9].

La pacienții cronici HBV-infectați cu o afectare hepatică mică, dar cu un control al replicării HBV, erau prezente T-celule CD8+ HBV-specifice funcțional active în circulație și în ficat. Din contra, pacienții cu o rată înaltă a replicării HBV și prezența inflamației vădite hepatice au arătat un pattern diferit al T-celulelor CD8+ virus-specifice [9].

Prezența unei cantități mari de antigene virale, de regulă, este însoțită de creșterea insuficienței T-celulelor HBV-specifice (cantitative și funcționale), care se manifestă prin reducerea treptată (în decurs de câțiva ani – zeci de ani) a populațiilor T-celulare CD4+ și CD8+ practic până la nivel nedetectabil. Insuficiența imunității celulare se observă la pacienți de rase diferite (asiatici-europeni), infectați cu diverse genotipuri HBV. Se apreciază un spectru larg de modificări ale T-celulelor HBV-specifice – de la insuficiență funcțională (în urma deprimării potențialului de proliferare și scăderii producerii de citokine) până la supraproducerea moleculelor proapoptogene [1]. Până în prezent nu este pe deplin clar, în ce mod în cadrul infecției cronice HBV T-celulele virusspecifice, insuficiente cantitativ și funcțional, sunt capabile de a regula procesele imunologice în ficat. Există o părere, precum că episoadele acutizării hepatitei cronice B reflectă restabilirea răspunsului adecvat al T-celulelor HBV-specifice. Această ipoteză nu are o bază experimentală și se bazează pe cercetările care indică restabilirea T-celulelor helper HBV-specifice imediat după acutizare. Anterior s-a demonstrat că răspunsul T-celular CD8+ HBV-specific corelează cu capacitatea de a controla nivelul viremiei și nu corelează cu intensitatea afectării hepatice [1]. Până nu demult lipseau date exacte despre participarea altor componente ale sistemului imun, în particular ale imunității congenitale, și doar în ultimii ani au apărut

date despre posibila implicare a NK-celulelor (la activarea lor prin intermediul citokinelor) în procesul afectării celulare și acutizării hepatitei cronice B [1].

Înțelegerea cineticii răspunsului imun în acutizarea hepatitei cronice B este posibilă cu ajutorul analizei indicilor imunologici după sistarea tratamentului antiviral (fig. 3). Este cunoscut faptul că preparatele alfa-interferon (IFN- α) și analogii nucleotidelor/nucleozidelor, ce deprimă activitatea transcriptazei inverse, într-o anumită măsură permit controlul replicării virale, dar eliminarea HBV se întâmplă rar sub acțiunea acestor preparate. Din această cauză întreruperea tratamentului antiviral conduce spre activarea rapidă a replicării HBV cu apariția ulterioară a manifestărilor clinice ale acutizării hepatitei. Aceste două faze – activarea replicării HBV și începutul acutizării hepatitei cronice – sunt cert delimitate. În lucrarea lui A. Bertoletti s-a demonstrat, că activarea replicării virale după sistarea tratamentului antiviral nu duce imediat la afectarea hepatică [1]. Răspunsul imun asociat cu apariția semnelor clinice ale acutizării hepatitei cronice se dezvoltă doar peste 8 - 12 săptămâni după sistarea terapiei. Pe lângă aceasta, mecanismele imunoregulatorie (de exemplu, IL-10 și T reg) nu participă la reținerea răspunsului imun, deoarece nivelurile IL-10 și ale limfocitelor T-reg nu se majorează imediat după sistarea preparatelor antivirale, dar urmează majorarea lor după creșterea activității alaninaminotransferazei (ALAT) [1].

Răspunsul imun umoral este cea de-a doua armă majoră, îndreptată împotriva infecției HBV. Anticorpul HBV – specifici sunt indicatorii stadiilor maladiei. Ig M specifică către HBcAg este un marker precoce al infecției, în timp ce anticorpii către HBeAg și HBsAg sunt markeri tardivi și indică o rezolvare favorabilă a infecției. Anticorpii specifici HBsAg mediază o imunitate protectivă. Anticorpii IgG specifici HBcAg și HBsAg persistă pe parcursul vieții după însănătoșirea clinică [4].

Compozițiile proteice diferite ale virusului HBV pot evoca generarea diverselor subclase IgG. La persoanele natural infectate anti-HBs IgG constau din IgG3 și IgG1 [5]. Studiile recente de asemenea sugerează că anti-HBs, subclasa IgG1 au fost predominanți la pacienții vindecați, la purtătorii cronici și la cei vaccinați. Titrele relative anti-HBs IgG au fost IgG1 > IgG3 = IgG4 la purtătorii cronici și persoanele vindecate. Pentru anti HBc pattern-ul subclasei anti HBc IgG a fost IgG1 > IgG3 > IgG4 - la purtătorii cronici și IgG 3 > IgG1 > IgG4 - la persoanele vindecate. Pentru anti HBe pattern-ul subclasei anti HBe IgG a fost IgG1 > IgG4 > IgG3 la purtătorii cronici și IgG1 > IgG3 > IgG4 - la persoanele vindecate. Nivelul IgG2 al anti HBe, anti HBc și anti HBs este cel mai mic [5].

Este cunoscut faptul că în deprimarea răspunsului imun viralspecific pot lua parte mecanismele, ce inhibă activitatea T-celulelor autoreactive. Rolul principal în acest proces le aparține T-celulelor reglatoare (Treg) [3]. Regularea celulelor-T HBV specifice este efectuată prin activitatea celulelor-T CD4+ reglatoare. Celulele-T reglatoare pot limita clearance-ul viral în infecția cronică prin inhibiția proliferării și funcției efectoare a celulelor-T și a altor celule imune. S-a

demonstrat că pacienții cu infecția cronică HBV au crescut procentajul celulelor-T reglatoare CD4+ CD25+ FoxP3+ în sângele periferic, comparativ cu grupul de control, format din persoane sănătoase și indivizi care au tratat infecția HBV. Celulele-T reglatoare izolate din sângele periferic al acestor pacienți sunt capabile să inhibe răspunsul T-celular CD4+ și CD8+ HBV specific *in vitro* [2].

Numărul înalt de celule-T reglatoare și citokine imunosupresive pot limita abilitatea celulelor-T intrahepatice de a eradica HBV.

Pe lângă celulele sistemului imun, în ultimii ani s-a determinat și rolul major al trombocitelor în afectarea hepatică de către infecția virală. Astfel, în cercetările M. Jannacone și coaut. s-a demonstrat, că trombocitele activate participă în patogenizarea afectării hepatice și clearance-ului HBV și HCV cu implicarea CTL virus-specifice. În rezultatul interacțiunii CTL cu trombocitele în sinusoidalele ficatului, CTL pot migra din patul vascular la celula parenchimatosa (de exemplu, în hepatocit) și să realizeze efectul patogenetic și/sau antiviral [1].

Participarea trombocitelor activate în atragerea CTL virusspecifice presupune că acțiunea farmacologică asupra moleculelor, implicate în activarea trombocitelor, poate preîntâmpina migrația CTL în ficat și reduce gradul de afectare a hepatocitelor.

Cercetările experimentale au arătat că combinarea dozelor mici de aspirină și clopidogrel duce la deprimarea exprimată a ambelor procese. Complicații hemoragice nu s-au apreciat. Observările efectuate confirmă că pe lângă prevenirea activării exagerate a reacțiilor imune în ficat (de exemplu, în hepatitele fulminante) sau încetării clearance-ului virusurilor, administrarea îndelungată a aspirinei și clopidogrelului este însoțită de "înmuieră" severității atingerii hepatice cronice CTL-induse și preîntâmpină sau încetinesc tempoul dezvoltării carcinomului hepatocelular. La șobolani HBV-transgenici, care reprezintă modelul portajului "sănătos" la om, se formează toleranță imunologică la antigenele virale și nu se observă dezvoltarea hepatitei pe parcursul vieții. În caz de înlocuire a sistemului imun tolerant al unui astfel de șobolan cu sistemul imun al unui șobolan singen netransgenic, anterior imunizat cu produse proteice HBV, se dezvoltă hepatita cronică CTL-dependentă cu activitate joasă, cu trecerea în carcinom hepatocelular. Aceste date pot servi ca bază pentru alcătuirea principiilor utilizării factorilor antitrombotici în calitate de măsuri de profilaxie a dezvoltării carcinomului hepatocelular [1].

Infecția HBV cronică se caracterizează prin persistența în organism a concentrațiilor înalte ale virusului (până la 10^{10-12} copii ADN/ml) și particulelor sale, care conțin antigenul de suprafață (HBsAg); producerea ultimelor de 10^{4-6} ori este mai înaltă decât concentrația virionilor compleți [1].

La baza unor astfel de sisteme efective de reproducere stă capacitatea HBV de a crea o matrice episomală transcripțională foarte stabilă (fig. 4).

Nivelul replicării virale și formarea ccc ADN corelează cu efectul citopatic în hepatocitele infectate [10].

Preparatele antivirale permit realizarea controlului replicării virale, dar eliminarea HBV se determină foarte rar, drept cauză servind capacitatea virusului de-a exista sub formă ADN circular închis covalent (*covalently closed circular*) (ccc ADN), care poate iniția replicarea HBV imediat după întreruperea tratamentului antiviral. În cazul persistenței

cccADN, eliminarea HBV este posibilă doar prin inducerea unui răspuns imun efectiv. Un astfel de răspuns poate fi atins prin "setarea" sistemului imun cu ajutorul preparatelor imunomodulatoare, vaccinării adecvate sau prin intermediul terapiei T-celulare, utilizându-se T-celulele *ex vivo* T-celule activate sau reprogramate [1].

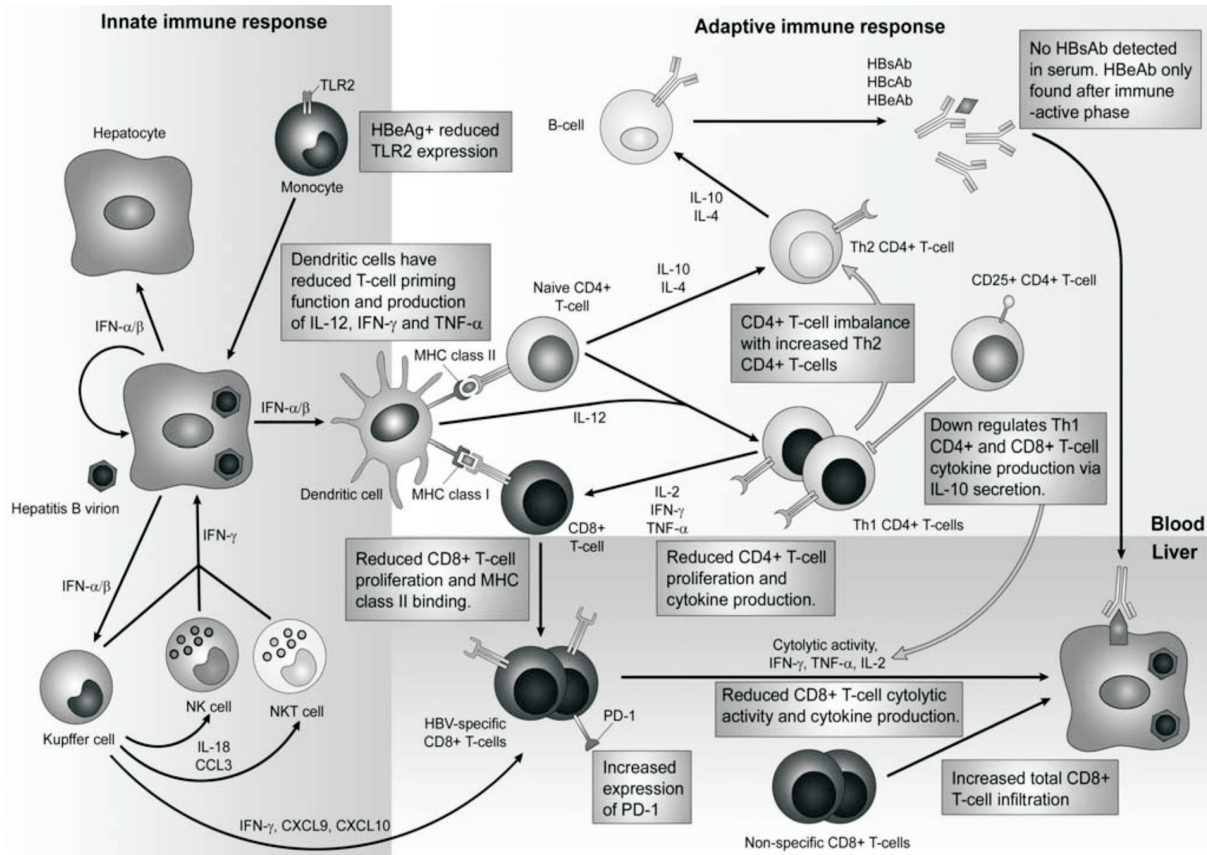


Fig. 1. Răspunsul imun împotriva HBV și efectele infecției cronice HBV (J. J. Chang și S. R. Lewin, 2007).

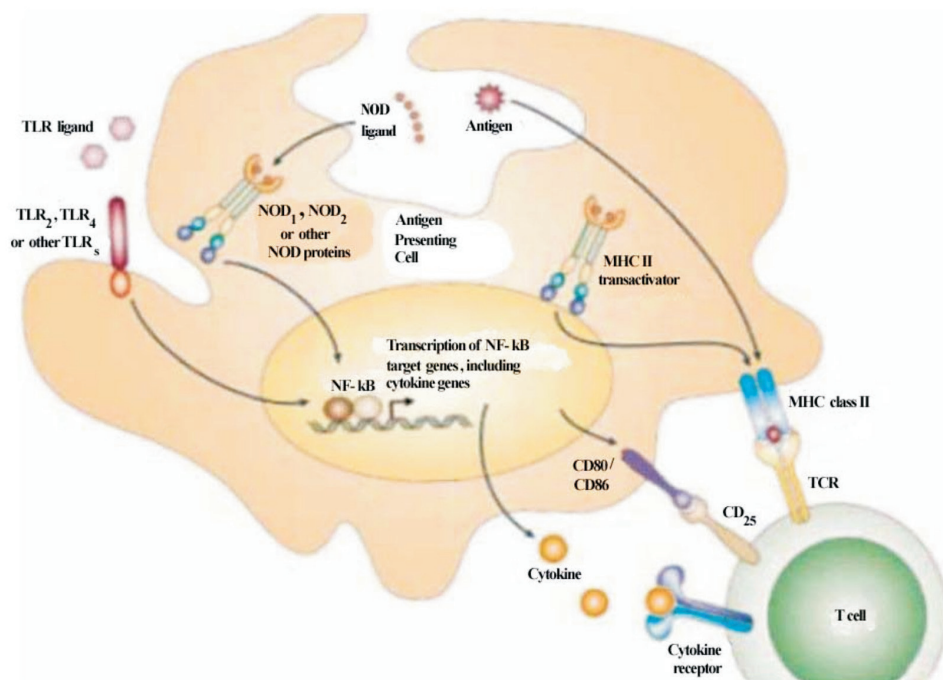


Fig. 2. Calea TLR și interacțiunea cu răspunsul imun specific (Inohara și Nunez).

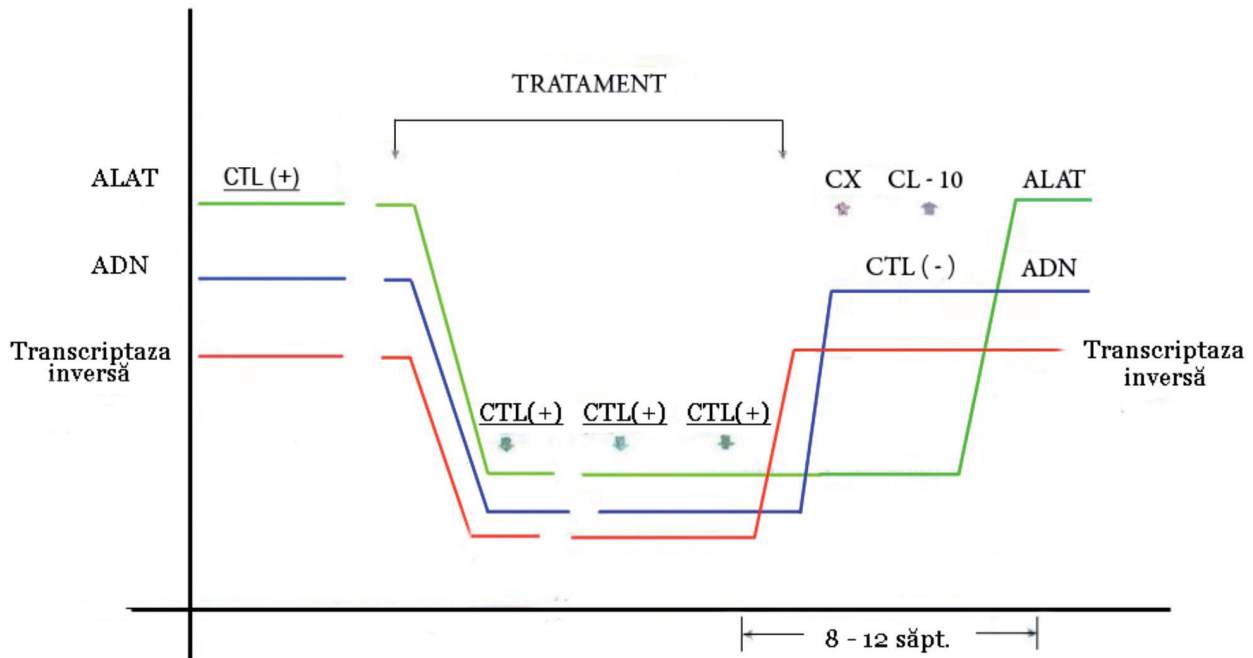


Fig. 3. Recidiva hepatitei cronice B după sistarea tratamentului (V. T. Ivashkin, 2009).

Acutizarea hepatitei cronice B sigur se asociază cu elevarea în sângele pacienților a nivelurilor hemotoxinelor CXCL-9 și CXCL-10, induse de interferonul-gamma (IFN- γ) [1].

Comparația cantității NK-celulelor circulante și T-celulelor virusspecifice (producători mult mai probabili de IFN- γ) nu a scos în evidență o corelare evidentă dintre activarea NK-celulelor sau cantitatea T-celulelor HBV-specifice și debutul acutizării hepatitei cronice. Dimpotrivă, celulele-T HBV-specifice se apreciază doar la pacienții fără activarea replicării HBV (păstrându-se controlul replicării) și în lipsa semnelor afectării hepatice. Pe lângă aceasta, recunoașterea hepatocitelor infectate de către limfocitele HBV-citotoxice se efectuează preponderent prin intermediul CXCL-10 și în măsură mai mică CXCL-9. Producerea de către hepatocite a ultimului hemotoxin se realizează prin semnale suplimentare, regulate de IFN- α [1].

IFN- γ produs de NKT, NK și Th1/Tc1 T-celule, induc sinteza hemokinelor CXCL-9 (*monokine induced by IFN- γ* (Mig), CXCL-10 (IP-10), și CXCL-11 (*interferon-inducible Tcell chemoattractant* [ITAC])). Aceste hemokine din familia CXC sunt produse de celulele endoteliale sinusoidale, macrofage și hepatocite și se leagă de CXCR3, un receptor care este exprimat la un nivel înalt pe ficatul infiltrat, apoi pe T-celulele din sângele periferic [4].

Astfel IFN- γ , responsabil de diminuarea replicării HBV, este produs nu de celulele inflamatoare recrutate ale gazdei, dar numai de CTLs transferate adoptiv [4].

Lezarea hepatică și distrugerea hepatocitelor poate decurge pe câteva căi. Hepatocitele infectate pot fi ucise de celulele-T CD8 prin FasL, TNF α și/sau calea perforin/granzyme [4].

Organele și țesuturile, în care HBV persistă nu sunt cunoscute. În hepatita cronică B formele replicative ale virusului au fost detectate în epiteliul ducturilor biliare și

celulele musculare netede, în pancreas, rinichi și piele, creier, țesutul endocrin, nodulii limfatici și formele non-replicative în celulele sistemului imun [4].

Concluzii

Afectarea hepatică în infecția HBV cronică posedă un caracter imunomediat, deoarece virusul hepatic B nu posedă acțiune citopatică directă. Clearance-ul HBV și afectarea imună a celulelor hepatice se realizează de către limfocitele citotoxice virusspecifice (CTL) ale sistemului imun adaptiv. Persistența HBV reflectă incapacitatea CTL de a elimina virusul din organism, ceea ce inițiază o reacție cronică necroinflamatoare în ficat, conducând în rezultat la dezvoltarea cirozei sau carcinomului hepatocelular. Afectarea cronică a ficatului în infecția HBV prezintă un proces potențial pretumoral în sine, care decurge cu dereglarea balanței dintre regenerarea hepatocitelor și inflamație. Rolul trombocitelor activate în patogeniza hepatitei virale cronice constă în capacitatea lor de a atrage în patul microvascular al ficatului celulele CTL. Drept cauze ale persistenței HBV și HCV se consideră următoarele mecanisme: 1) disfuncția CD4+ și CD8+ celulelor-T în rezultatul replicării virale prelungite – ipoteza “epuizării”; 2) disfuncția celulelor-T reguloare (T reg) – ipoteza “regulării”; 3) acțiunea de “scăpare” a HBV față de mecanismul de apărare al gazdei prin ocolirea supravegherii imunologice - ipoteza “scăpării” imune (virus escape); 4) modificările în replicarea virală.

Sistarea IFN- α sau a analogilor nucleozidici/nucleotidici la pacienții cu hepatita cronică B poate duce la activarea replicării HBV, însoțită de manifestări clinice și de laborator (acutizarea hepatitei cronice). Răspunsul imunopatologic sub forma acutizării hepatitei cronice cel mai des se dezvoltă peste 8-12 săptămâni, după sistarea tratamentului antiviral.

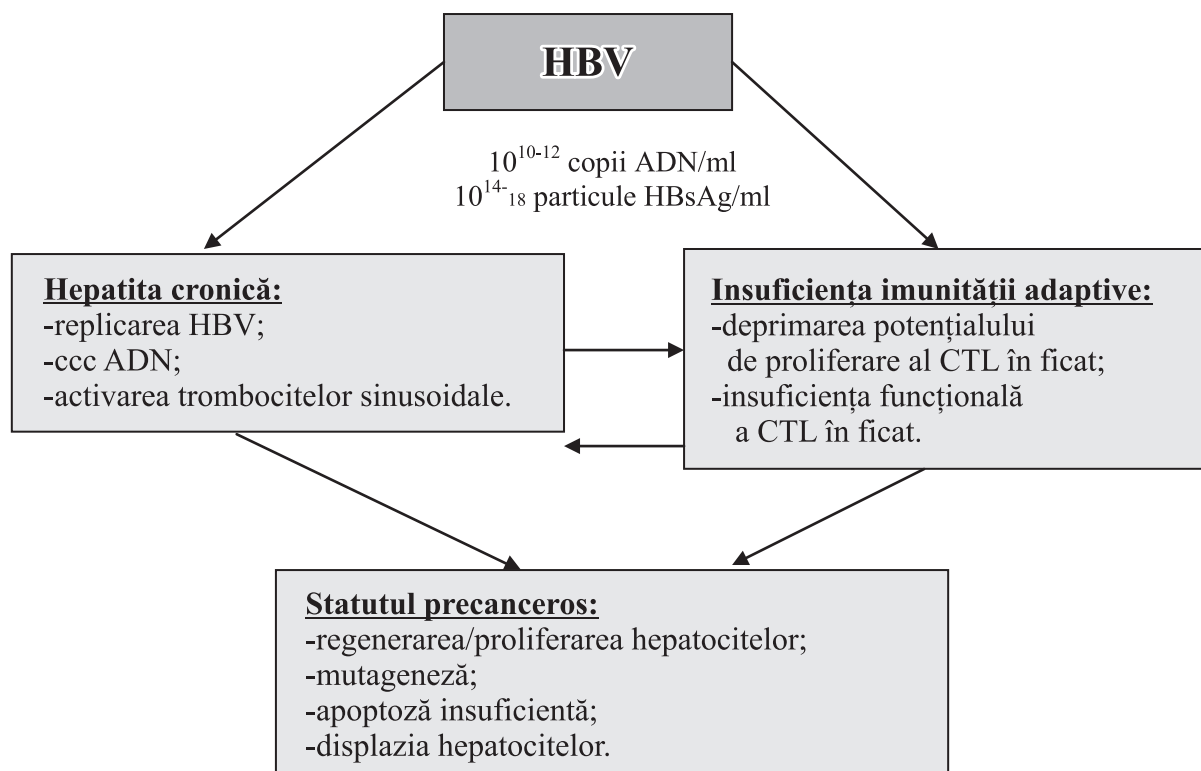


Fig. 4. Patogeneza hepatitei cronice virale B (V. T. Ivashkin, 2009).

Acest interval poate fi considerat ca “fereastră terapeutică”, în limitele căruia în cazul depistării la pacient a deficitului cantitativ și funcțional al CTL HBV-specifice, este necesar de reînceput tratamentul antiviral.

Întreruperea tratamentului antiviral este însoțită de restabilirea bruscă a activității transcriptazei inverse și replicării ADN HBV. Dar începutul acutizării hepatitei cronice are loc peste 8-12 săptămâni după anularea tratamentului. Acest proces este legat de scăderea cantității celulelor –T citotoxice HBV-specifice și de creșterea în sângele pacienților a hemochinei CXCL-10, indusă de către interferonul-gamma.

Încărcătura virală înaltă servește drept factor-cheie în dezvoltarea insuficienței imunității adaptive, în particular a T-limfocitelor citotoxice (CTL) în ficat. Procesul cronic necrotic-inflamator în ficat persistă datorită replicării treptate a virusului pe matrice episomală (extracromozomială) ciclic covalent circular închisă ADN (cccADN) și insuficienței funcționale a limfocitelor citotoxice din ficat, incapabile de a elimina celulele infectate cu virus. Decurgerea inflamației cronice este susținută de trombocitele sinusoidale, care contribuie la migrarea limfocitelor citotoxice din sânge în ficat. Replicarea noilor hepatocite este însoțită de creșterea mutațiilor în genomul lor și de schimbările displastice, iar eliminarea

insuficientă a hepatocitelor cu ADN afectat prin intermediul apoptozei, contribuie la dezvoltarea statutului precanceros.

Bibliografie

1. Ивашкин ВТ. Иммунная система и повреждение печени при хронических гепатитах В и С. *Рос. Журн. Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии*. 2009;6:4-10.
2. Boonstra Andre, Woltman Andrea M, Janssen Harry LA. Immunology of hepatitis B and hepatitis C virus infections. *Best Practice& Research Clinical Gastroenterology*. 2008;22(6):1049-1061.
3. Bertolotti Antonio, Gehring Adam J. The immune response during hepatitis B virus infection. *Journal of General Virology*. 2006;87:1439-1449.
4. Rehermann Barbara. Immune Response in Hepatitis B Virus Infection. *Seminars in Liver Disease*. 2003;23(1):21-37.
5. Chien-Fu Huang, Shih-Shen Lin, Yung-Chyuan Ho. The Immune Response Induced by Hepatitis B Virus Principal Antigens. *Cellular&Molecular Immunology*. 2006;3(2):97-106.
6. Ratnam Dilip, Visvanathan Kumar. New concepts in the immunopathogenesis of chronic hepatitis B: the importance of the innate immune response. *Hepatol Int*. 2008;2:S12-S18.
7. Chang J. Judy, Lewin Sharon R. Immunopathogenesis of hepatitis B virus infection. *Immunology and Cell Biology*. 2007;85:16-23.
8. Lang Karl S, Georgiev Panco, Recher Mike. Immunoprivileged status of the liver is controlled by Toll-like receptor 3 signaling. *The Journal of Clinical Investigation*. 2006;116(9):2456-2462.
9. Jung Maria-Christina, Pape Gerd R. Immunology of hepatitis B infection. *The Lancet Infectious Diseases*. 2002;2:43-50.
10. Baumert Thomas F, Thimme Fritz von Weizsäcker Robert. Pathogenesis of hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol*. 2007;13(1):82-90.