

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ORIGINAL ARTICLES

DOI: 10.38095/2181-466X-20251192-6-12

УДК 612.35:615.322:616.36-002.2:616.36-004:616.36-004.2

ИЗМЕНЕНИЕ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК В ЛЕЙКОЦИТАХ И СТЕРИЛЬНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ С HBV ИНФЕКЦИЕЙ И ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ

Б. Р. Абдулазизхожиев¹, В. А. Алейник^{1,2}, М. А. Жураева¹, С. М. Бабич¹¹Андижанский государственный медицинский институт, Андижан,²Андижанский филиал Института иммунологии и геномики человека

Академии наук Республики Узбекистан, Андижан, Узбекистан

Ключевые слова: хронический HBV гепатит, цирроз печени, интерлейкины, ДНК метилтрансфераза 1, 5-метил-2'-дезокситидин, алармины, эпигенетическое метилирование ДНК.

Tayanch soʻzlar: surunkali HBV hepatit, jigar sirrozi, interleykinlar, DNK metiltransferaza 1, 5-metil-2'-deoksitsitidin, alarminlar, epigenetik DNK metilatsiyasi.

Key words: chronic HBV hepatitis, liver cirrhosis, interleukins, DNA methyltransferase 1, 5-methyl-2'-deoxycytidine, alarmins, epigenetic DNA methylation.

В работе изучалось изменение метилирования ДНК в лейкоцитах и стерильного воспаления у больных с HBV инфекцией и циррозом печени. В результате исследования установлено, что провоспалительные цитокины (TNF- α , IL-1 β , IL-1 α , IL-33) играют ключевую роль в патогенезе хронического гепатита В и его осложнений. Их гиперпродукция коррелирует с тяжестью воспаления, фиброза и цирроза печени. Дефицит противовоспалительного IL-10 способствует неконтролируемому воспалению и прогрессированию заболевания, что делает его потенциальным маркером риска фиброза и цирроза. HMGB1 и мочевая кислота являются важными медиаторами воспаления и повреждения тканей, их уровни коррелируют с тяжестью заболевания. Повышение активности DNMT1 и уровня 5-mdC в лизатах лейкоцитов при пост-HBV-инфекции и хронической HBV-инфекции свидетельствует о значительных эпигенетических изменениях, которые могут способствовать хронизации инфекции и нарушению иммунного ответа. Умеренное снижение DNMT1 и 5-mdC при циррозе отражает глобальную дезорганизацию эпигенетических процессов на фоне тяжелого повреждения печени. Это может быть связано с гипометилированием, изменением клеточного состава и усилением окислительного стресса.

HBV INFEKTSIYALI JIGAR SIRROZI BILAN XASTALANGAN BEMORLARDA OQ QON HUYAYRALARIDA DNK METILLASHUVI VA STERIL YALLIGʻLANISHNING OʻZGARISHI

B. R. Abdulazizhojiyev¹, V. A. Aleynik^{1,2}, M. A. Joʻrayeva¹, S. M. Babich¹¹Andijon davlat tibbiyot instituti, Andijon,²Oʻzbekiston Respublikasi fanlar Akademiyasi immunologiya va Inson genomikasi institutining Andijon filiali, Andijon, Oʻzbekiston

Ishda HBV infektsiyali jigar sirrozi boʻlgan bemorlarda oq qon hujayralarida DNK metilatsiyasi va steril yalligʻlanishning oʻzgarishi oʻrganildi. Tadqiqot shuni koʻrsatdiki, yalligʻlanishga qarshi sitokinlar (TNF- α , IL-1 β , IL-1 α , IL-33) surunkali hepatit B patogenezida va uning asoratlarida asosiy rol oʻynaydi. Ularning haddan tashqari koʻpayishi yalligʻlanish, fibroz va jigar sirrozining ogʻirligi bilan bogʻliqdir. Yalligʻlanishga qarshi IL-10 etishmovchiligi kasallikning nazoratsiz yalligʻlanishi va rivojlanishiga yordam beradi, bu esa uni fibroz va siroz xavfining potensial belgisiga aylantiradi. HMGB1 va siydik kislotasi yalligʻlanish va toʻqimalarning shikastlanishining muhim vositachilari boʻlib, ularning darajasi kasallikning ogʻirligi bilan bogʻliqdir. Post-HBV infektsiyasi va surunkali HBV infektsiyasida oq qon hujayralari lizatlarida DNMT1 faolligi va 5-MDC darajasining oshishi infektsiyaning surunkali holatiga va immunitetning buzilishiga olib kelishi mumkin boʻlgan sezilarli epigenetik oʻzgarishlarni koʻrsatadi. Sirozda DNMT1 va 5-mdC ning oʻrtacha pasayishi jigarning ogʻir shikastlanishi fonida epigenetik jarayonlarning global disorganizatsiyasini aks ettiradi. Bu gipometilatsiya, hujayra tarkibining oʻzgarishi va oksidlovchi stressning kuchayishi bilan bogʻliq boʻlishi mumkin.

CHANGES IN DNA METHYLATION IN LEUCOCYTES AND STERILE INFLAMMATION IN PATIENTS WITH HBV INFECTION AND LIVER CIRRHOSIS

B. R. Abdulazizkhozhiev¹, V. A. Aleinik^{1,2}, M. A. Zhuraeva¹, S. M. Babich¹

Andijan state medical institute, Andijan,

Andijan branch of the Institute of Human Immunology and Genomics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Andijan, Uzbekistan

The work studied changes in DNA methylation in leukocytes and sterile inflammation in patients with HBV infection and liver cirrhosis. The study found that proinflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-1 α , IL-33) play a key role in the pathogenesis of chronic hepatitis B and its complications. Their hyperproduction correlates with the severity of inflammation, fibrosis and cirrhosis of the liver. Deficiency of anti-inflammatory IL-10 promotes uncontrolled inflammation and disease progression, making it a potential marker of fibrosis and cirrhosis risk. HMGB1 and uric acid are important mediators of inflammation and tissue damage, their levels correlate with disease severity. Increased DNMT1 activity and 5-mdC levels in leukocyte lysates in post-HBV infection and chronic HBV infection indicate

significant epigenetic changes that may contribute to the chronicity of infection and impaired immune response. Moderate decrease in DNMT1 and 5-mdC in cirrhosis reflects global disorganization of epigenetic processes against the background of severe liver damage. This may be associated with hypomethylation, changes in cellular composition and increased oxidative stress.

Метилирование ДНК, являясь стабильной эпигенетической модификацией, играет ключевую роль в ответе на воздействие факторов окружающей среды и патогенезе хронических заболеваний печени [3]. Современные исследования выявили, что изменения паттернов метилирования в мононуклеарных клетках периферической крови (ДНК) могут изменяться с прогрессированием фиброза и цирроза печени (ЦП) на фоне хронической ВГВ-инфекции [6; 1]. Важно отметить, что эти изменения отражают не циркулирующую ДНК, а динамику взаимодействия иммунной системы с патологическим процессом, что подтверждает их специфичность в контексте иммунного ответа [10]. Полногеномный анализ метилирования CpG-сайтов в ДНК открывает перспективы для выявления неинвазивных биомаркеров, способных отслеживать фиброз и ЦП, а также для разработки диагностических моделей, прогнозирующих течение заболевания [4]. Ключевым аспектом остается связь эпигенетических изменений с дисфункцией иммунитета. Метилирование, ассоциированное с фиброзом, может указывать на нарушения регуляции иммунных процессов, что подчеркивает необходимость углубленного изучения иммунных механизмов, лежащих в основе перехода хронического гепатита в ЦП [6].

В клинической практике сохраняется актуальность поиска надежных маркеров, превосходящих традиционные подходы. Несмотря на широкое использование уровня aminotransferases (АЛТ) как индикатора воспаления, его диагностическая ценность ограничена слабой корреляцией с активностью некровоспалительного процесса и прогрессированием заболевания [7]. В отличие от этого, циркулирующие алармины (DAMP), высвобождающиеся при гибели гепатоцитов, демонстрируют потенциал в качестве предикторов поздних стадий патологии, включая ЦП [8]. Эти молекулы, инициирующие стерильное воспаление, могут поддерживать «порочный круг» повреждения печени, усугубляя фиброз и способствуя декомпенсации [5]. Системное воспаление, усиливающееся на поздних стадиях заболеваний печени, ассоциировано с риском смертности и служит независимым прогностическим фактором [2; 9]. Таким образом, интеграция эпигенетических профилей, уровня DAMP и маркеров клеточной гибели в клинические алгоритмы может революционизировать мониторинг хронических ВГВ-ассоциированных патологий, обеспечивая раннее выявление групп риска и персонализированные стратегии лечения. Переосмысление роли иммунных и эпигенетических механизмов открывает новые горизонты для понимания патогенеза ЦП и разработки целевых терапевтических вмешательств.

Цель исследования: изменение метилирования ДНК в лейкоцитах и стерильного воспаления у больных с HBV инфекцией и циррозом печени.

Материал и методы. В исследовании приняли участие 106 человек, из которых 25 были здоровыми добровольцами, а 81 пациент имел положительные серологические маркеры вирусной инфекции гепатита В (HBV). Среди пациентов с HBV-инфекцией были выделены три группы, из них 35 пациентов с серологическими маркерами, характерными для перенесенной HBV-инфекции (постинфекция), 27 пациентов с серологическими маркерами, указывающими на хроническую HBV-инфекцию и 19 пациентов с хронической HBV-инфекцией и диагностированным циррозом печени, подтвержденным методом эластографии (стадия 4F). У всех участников исследования проводился анализ сыворотки крови для определения уровня провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, а также показателей аларминов, участвующих в процессах стерильного воспаления.

Уровень провоспалительных цитокинов, включая интерлейкин-1 β (IL-1 β) и фактор некроза опухоли- α (TNF- α), а также противовоспалительного цитокина интерлейкина-10 (IL-10), определяли с использованием тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия). Концентрация высокомолекулярной группы бокса 1 (HMGB1) и интерлейкина-1 α (IL-1 α) определялась методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем «CusabioBiotech» (США). Уровень интерлейкина-33 (IL-33) оценивали с помощью тест-системы «CloudCloneCorp» (США). Показатели мочевой кислоты измеряли с использованием наборов «HUMAN» (Германия). Метилирование ДНК оценивали по

изменению 5-метил-2'-дезоксцитидина, который образуется в результате метилирования цитозина в позиции С5. Для этого использовали супернатант отмытых лизированных лейкоцитов, выделенных в градиенте плотности фиколл-верографина. Концентрацию 5-метил-2'-дезоксцитидина определяли методом ИФА с использованием стандартного набора BSM Diagnostics (США). Активность ДНК-метилтрансферазы 1 (DNMT1) также оценивали в супернатанте лизированных лейкоцитов с использованием набора для определения (cytosine-5)-methyltransferase 1 (DNMT1) производства «Human» (Германия).

Статистический анализ данных проводился с использованием методов вариационной статистики. Рассчитывались средние значения и их стандартные ошибки. Для оценки достоверности различий между группами применяли критерий Стьюдента-Фишера (t-критерий). Все расчеты выполнялись с учетом уровня значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований было установлено, что фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), являющийся ключевым медиатором системного воспаления и апоптоза, демонстрировал выраженную корреляцию с тяжестью поражения печени при вирусном гепатите В (HBV). У здоровых лиц уровень TNF- α поддерживался на минимальном физиологическом уровне и составлял $4,7 \pm 0,6$ пг/мл, что соответствует балансу между про- и противовоспалительными процессами. При хронизации HBV-инфекции концентрация TNF- α достигал $29,5 \pm 3,8$ пг/мл, демонстрируя увеличение относительно пост-инфекционной группы в 3,2 раза ($p < 0,001$), по сравнению со здоровыми лицами рост в 6,3 раза ($p < 0,001$). Наиболее выраженные изменения выявлены у пациентов с циррозом печени на фоне HBV. Уровень TNF- α здесь возрастал до $72,4 \pm 7,5$ пг/мл, что соответствовало превышению здоровых лиц в 15,4 раза ($p < 0,001$), росту относительно пост-HBV группы в 7,9 раза ($p < 0,001$) и увеличению по сравнению с хронической HBV инфекцией в 2,5 раза ($p < 0,001$). Эти данные отражают прямую зависимость между концентрацией TNF- α и степенью деструкции печени, на конечных стадиях цирроза (табл. 1).

Полученные данные исследования IL-1 β показали, что у здоровых индивидуумов, не имеющих признаков инфекции или воспаления, уровень IL-1 β в сыворотке крови сохранялся в строго контролируемых пределах, составляя $2,9 \pm 0,3$ пг/мл. В группе лиц, перенесших инфекцию (HBV пост инфекция), концентрация IL-1 β возрастала до $7,4 \pm 0,9$ пг/мл, что превышало показатели здоровых в 2,6 раза ($p < 0,001$). Такое увеличение свидетельствует о персистирующей активации врожденного иммунитета, которая

Таблица 1.

Изменение исследованных показателей здоровых и больных хроническим гепатитом и циррозом с HBV инфекцией.

Сывороточные маркеры	Здоровые	HBV постинфекция	Хроническая HBV инфекция	HBV цирроз
Про воспалительные и противовоспалительные интерлейкины крови				
TNF- α , пг/мл	$4,7 \pm 0,6$	$9,2 \pm 1,1^*$	$29,5 \pm 3,8^{*o}$	$72,4 \pm 7,5^{*o+}$
IL -1 β , пг/мл	$2,9 \pm 0,3$	$7,4 \pm 0,9^*$	$20,3 \pm 2,8^{*o}$	$55,7 \pm 6,1^{*o+}$
IL -10, пг/мл	$8,6 \pm 0,9$	$5,9 \pm 0,6^*$	$1,9 \pm 0,2^{*o}$	$0,8 \pm 0,1^{*o+}$
Метилирование ДНК в составе лизатов лейкоцитов				
ДНК-метилтрансфераза 1, нМ/мл	$29,8 \pm 3,1$	$44,1 \pm 4,6^*$	$60,5 \pm 6,4^*$	$51,2 \pm 5,3^*$
5-метил-2'-дезоксцитидина, нг/мл	$73 \pm 6,9$	$106 \pm 10,9^*$	$137 \pm 14,5^*$	$112 \pm 12,7^*$
Алармины крови				
HMGB1, пг/мл	$79 \pm 8,1$	$105 \pm 10,6$	$138 \pm 14,2^*$	$199 \pm 20,6^{*o+}$
ИЛ-1 α , пг/мл	$62 \pm 6,5$	$84 \pm 8,7$	$97 \pm 10,1^*$	$165 \pm 16,9^{*o+}$
ИЛ-33, пг/мл	$36,4 \pm 3,8$	$49,1 \pm 5,2$	$67 \pm 6,9^*$	$105 \pm 11,2^{*o+}$
Мочевая кислота, мкмоль/л	$291 \pm 30,8$	$374 \pm 38,3$	$485 \pm 49,2^*$	$694 \pm 71,4^{*o}$

Примечание: * - достоверно отличающиеся величины к показателям здоровых лиц.
o - достоверно отличающиеся величины к показателям HBV пост инфекции.
+ - достоверно отличающиеся величины к показателям HBV хронической инфекции.

сохраняется после элиминации вируса. При переходе инфекции в хроническую форму наблюдался значительный рост уровня IL-1 β до $20,3 \pm 2,8$ пг/мл. Данный показатель не только в 7 раз превышал значения здоровой группы, но и демонстрировал 2,7-кратный подъем по сравнению с пост-инфекционным состоянием. Подобная динамика подтверждает гипотезу о центральной роли IL-1 β в поддержании персистирующего воспаления. Значительно обнаруженные модификации отмечены у пациентов с HBV-ассоциированным циррозом печени. Концентрация IL-1 β в этой группе достигала $55,7 \pm 6,1$ пг/мл, что соответствует: 19,2-кратному превышению группы здоровых лиц, 7,5-кратному росту относительно пост-инфекционного состояния и 2,7-кратному увеличению по сравнению с хронической HBV-инфекцией. Существенный рост IL-1 β при циррозе отражает тяжесть деструктивных процессов в печени (табл. 1).

При исследовании противовоспалительного IL-10 здоровые лица характеризовались стабильно высоким уровнем этого показателя, составлявшего $8,6 \pm 0,9$ пг/мл, что отражает физиологическую способность организма подавлять избыточное воспаление и поддерживать иммунный гомеостаз. Однако уже на этапе пост-HBV-инфекции, даже при клиническом выздоровлении, концентрация IL-10 снижалась до $5,9 \pm 0,6$ пг/мл, что в 1,5 раза ниже показателей здоровой группы ($p < 0,001$). У пациентов с хроническим течением заболевания уровень IL-10 падал до $1,9 \pm 0,2$ пг/мл, демонстрируя относительно пост-инфекционной группы снижение в 3,1 раза ($p < 0,001$) и уменьшение по сравнению со здоровыми лицами в 4,5 раза ($p < 0,001$). Наиболее выраженная супрессия IL-10 наблюдалась у пациентов с HBV-ассоциированным циррозом печени. Концентрация цитокина здесь достигала критически низких значений составляя $0,8 \pm 0,1$ пг/мл, что соответствует снижению относительно хронической HBV-инфекции в 2,4 раза ($p < 0,001$) и уменьшению по сравнению с пост-инфекционным состоянием в 7,4 раза ($p < 0,001$), а также падению относительно здоровых лиц в 10,8 раза ($p < 0,001$). Этот значительный дефицит противовоспалительной регуляции коррелирует с высокой печеночной деструкцией. Низкий уровень IL-10 может служить прогностическим маркером риска фиброза и цирроза (табл. 1).

В результате проведенных исследований активности ДНК-метилтрансферазы 1 (DNMT1) в лизатах лейкоцитов было выявлено, что у лиц с пост-инфекцией HBV величина этого показателя составила $44,1 \pm 4,1$ нМ/мл, это достоверно ($p < 0,05$) превышало аналогичный показатель у здоровых лиц ($29,8 \pm 3,1$ нМ/мл) в 1,5 раза. Данный результат свидетельствует о значительном изменении эпигенетической регуляции у лиц, перенесших HBV-инфекцию. У пациентов с хронической HBV-инфекцией уровень активности DNMT1 был отмечен на уровне $60,5 \pm 6,4$ нМ/мл, что незначительно ($p > 0,05$) превышало показатели лиц с пост-инфекцией HBV в 1,4 раза. Однако по сравнению с группой здоровых лиц данный показатель был достоверно ($p < 0,05$) выше в 2,0 раза, что подчеркивает выраженные изменения в эпигенетических процессах при хронической форме инфекции. У пациентов с циррозом печени, ассоциированным с HBV-инфекцией, активность DNMT1 составила $51,2 \pm 5,3$ нМ/мл. Этот показатель был незначительно ($p > 0,05$) ниже на 1,2 раза по сравнению с данными у пациентов с хронической HBV-инфекцией. В то же время он был незначительно ($p > 0,05$) выше на 1,2 раза по сравнению с показателями лиц с пост-инфекцией HBV и достоверно ($p < 0,05$) превышал значения здоровых лиц в 1,7 раза. Это указывает на незначительное гипометилирование и на сохранение эпигенетической активности даже при прогрессировании заболевания до стадии цирроза (табл. 1).

В ходе проведенных исследований 5-метил-2'-дезокситидина (5-mdC) в лизатах лейкоцитов у пациентов с пост-HBV-инфекцией величина данного показателя составила $106 \pm 10,9$ нг/мл, что достоверно ($p < 0,05$) превышало аналогичный показатель у здоровых лиц, равный $73 \pm 6,9$ нг/мл, в 1,5 раза. Это указывает на наличие устойчивых эпигенетических изменений, сохраняющихся даже после разрешения острой фазы инфекции. У пациентов с хронической HBV-инфекцией уровень 5-mdC был еще выше и достигал $137 \pm 14,5$ нг/мл, что в 1,3 раза превышало показатели лиц с пост-HBV-инфекцией, хотя это различие не достигало уровня статистической значимости. При сравнении с группой здоровых лиц концентрация 5-mdC у пациентов с хронической HBV-инфекцией

оказалась в 1,9 раза выше ($p < 0,001$), что подчеркивает выраженность эпигенетических нарушений при хроническом течении заболевания. У пациентов с циррозом печени, ассоциированным с HBV-инфекцией, уровень 5-mdC составил $112 \pm 12,7$ нг/мл. Этот показатель был незначительно (в 1,2 раза) ниже, чем у пациентов с хронической HBV-инфекцией, что может отражать специфику эпигенетических изменений связанным с умеренным гипометилированием при прогрессировании заболевания до стадии цирроза. Однако по сравнению с группой пост-HBV-инфекции уровень 5-mdC у пациентов с циррозом был несущественно выше (в 1,1 раза), а по сравнению со здоровыми лицами и достоверно ($p < 0,05$) повышен в 1,5 раза, что подтверждает наличие устойчивых эпигенетических сдвигов даже на фоне развития тяжелых осложнений HBV-инфекции (табл. 1).

По результатам проведенных исследований уровня высокоподвижного группового белка B1 (HMGB1) в сыворотке крови у пациентов с пост-HBV- концентрация этого показателя составила $105 \pm 10,6$ пг/мл, что в 1,3 раза превышало аналогичный показатель у здоровых лиц, равный $79 \pm 8,1$ пг/мл. Однако это различие не достигало уровня статистической значимости ($p > 0,05$), что может свидетельствовать о частичном восстановлении гомеостаза после перенесенной инфекции, хотя и с сохранением некоторых иммунологических и воспалительных сдвигов. У пациентов с хронической HBV-инфекцией уровень HMGB1 был значительно выше и достигал $138 \pm 14,2$ пг/мл. Этот показатель в 1,3 раза превышал значения, зафиксированные у лиц с пост-HBV-инфекцией, хотя данное различие также не было статистически значимым. В то же время, по сравнению с группой здоровых лиц, концентрация HMGB1 у пациентов с хронической HBV-инфекцией была достоверно выше ($p < 0,001$) в 1,7 раза. Наиболее выраженные изменения уровня HMGB1 были отмечены у пациентов с циррозом печени, ассоциированным с HBV-инфекцией. В этой группе концентрация HMGB1 составила $199 \pm 20,6$ пг/мл, что было достоверно ($p < 0,05$) выше, чем у пациентов с хронической HBV-инфекцией, в 1,4 раза. По сравнению с лицами, перенесшими пост-HBV-инфекцию, уровень HMGB1 у пациентов с циррозом был значительно выше (в 1,9 раза), это различие достигало статистической значимости ($p < 0,001$). При этом по сравнению со здоровыми лицами концентрация HMGB1 у пациентов с циррозом печени была увеличена достоверно ($p < 0,001$) в 2,5 раза (табл. 1).

Проведенные исследования показали, что у пациентов с пост-HBV-инфекцией уровень интерлейкина-1 α (ИЛ-1 α) составил $84 \pm 8,7$ пг/мл, это в 1,4 раза превышало аналогичный показатель у здоровых лиц ($62 \pm 6,5$ пг/мл), однако данное различие не достигло статистической значимости ($p > 0,05$). У пациентов с хронической HBV-инфекцией концентрация ИЛ-1 α была значительно выше и достигала $97 \pm 10,1$ пг/мл, что в 1,2 раза превышало уровень у лиц с пост-HBV-инфекцией, хотя это различие также не было статистически значимым. Однако по сравнению с группой здоровых лиц уровень ИЛ-1 α у пациентов с хронической HBV-инфекцией был достоверно выше в 1,6 раза ($p < 0,001$). Наиболее выраженное увеличение уровня ИЛ-1 α наблюдалось у пациентов с циррозом печени на фоне HBV-инфекции, где его концентрация достигала $165 \pm 16,9$ пг/мл. Это значение было достоверно выше в 1,7 раза по сравнению с пациентами с хронической HBV-инфекцией ($p < 0,001$), в 2,0 раза по сравнению с лицами с пост-HBV-инфекцией ($p < 0,001$) и по сравнению со здоровыми индивидами достоверно ($p < 0,001$) в 2,7 раза (табл. 1).

Аналогичная тенденция была отмечена для уровня интерлейкина-33 (ИЛ-33). У лиц с пост-HBV-инфекцией концентрация ИЛ-33 составила $49,1 \pm 5,2$ пг/мл, что в 1,3 раза превышало уровень у здоровых лиц ($36,4 \pm 3,8$ пг/мл), хотя это различие также не достигло статистической значимости ($p > 0,05$). У пациентов с хронической HBV-инфекцией уровень ИЛ-33 был значительно выше и составлял $67 \pm 6,9$ пг/мл, что в 1,4 раза превышало показатель у лиц с пост-HBV-инфекцией, но без статистической значимости. При этом по сравнению со здоровыми лицами уровень ИЛ-33 у пациентов с хронической HBV-инфекцией был достоверно выше в 1,8 раза ($p < 0,001$). У пациентов с циррозом печени и HBV-инфекцией концентрация ИЛ-33 достигала $105 \pm 11,2$ пг/мл, что было достоверно выше в 1,5 раза по сравнению с пациентами с хронической HBV-инфекцией ($p < 0,05$). Также в 2,1 раза по сравнению с лицами с пост-HBV-инфекцией ($p < 0,001$) и в 2,9 раза достоверно ($p < 0,001$) по сравнению со здоровыми индивидами (табл. 1).

Кроме того, исследование выявило изменения в уровне мочевой кислоты в сыворотке крови. У лиц с пост-НВВ-инфекцией концентрация мочевой кислоты составила $374 \pm 38,3$ мкмоль/л, что в 1,3 раза превышало уровень у здоровых лиц ($291 \pm 30,8$ мкмоль/л), хотя это различие не было статистически значимым ($p > 0,05$). У пациентов с хронической НВВ-инфекцией уровень мочевой кислоты был значительно выше и достигал $485 \pm 49,2$ мкмоль/л, что в 1,3 раза превышало показатель у лиц с пост-НВВ-инфекцией, но без статистической значимости. Однако по сравнению со здоровыми лицами уровень мочевой кислоты у пациентов с хронической НВВ-инфекцией был достоверно выше в 1,7 раза ($p < 0,001$). У пациентов с циррозом печени и НВВ-инфекцией концентрация мочевой кислоты достигала $694 \pm 71,4$ мкмоль/л, что в 1,4 раза превышало уровень у пациентов с хронической НВВ-инфекцией, хотя это различие не было статистически значимым. При этом по сравнению с лицами с пост-НВВ-инфекцией уровень мочевой кислоты был достоверно выше в 1,9 раза ($p < 0,001$), а по сравнению со здоровыми лицами достоверно ($p < 0,001$) в 2,4 раза (табл. 1).

В целом проведенные исследования выявили значительные изменения в уровнях цитокинов, эпигенетических маркерах и других биохимических показателях у пациентов с различными стадиями НВВ-инфекции, включая пост-инфекционное состояние, хроническую форму и цирроз печени. Эти изменения отражают сложные иммунные и воспалительные процессы, лежащие в основе патогенеза НВВ-инфекции и ее осложнений. TNF- α и IL-1 β демонстрируют выраженную корреляцию с тяжестью поражения печени. Их уровни значительно повышаются при хронической НВВ-инфекции и достигают максимума при циррозе печени. Это подтверждает их центральную роль в поддержании хронического воспаления, апоптоза гепатоцитов и фиброгенеза. Уровень IL-10, ключевого противовоспалительного цитокина, значительно снижается при хронической НВВ-инфекции и достигает минимальных значений при циррозе. Это создает условия для неконтролируемого воспаления и прогрессирования фиброза и дисбалансу противовоспалительных механизмов. Дефицит IL-10 коррелирует с тяжестью заболевания, что подчеркивает его роль в поддержании иммунного гомеостаза и предотвращении хронизации инфекции. IL-1 α и IL-33 также показывают значительный рост при прогрессировании заболевания, что указывает на их участие в активации иммунных клеток и усилении воспалительных процессов. Гиперпродукция этих цитокинов способствует повреждению печени, активации звездчатых клеток и ускорению фиброза, что в конечном итоге приводит к циррозу. HMGB1, как медиатор воспаления и повреждения тканей, значительно повышается при хронической НВВ-инфекции и циррозе. Его уровень коррелирует с тяжестью воспалительных процессов и деструкцией печени. Повышение уровня мочевой кислоты при хронической НВВ-инфекции и циррозе может быть связано с усилением катаболических процессов, повреждением клеток и нарушением функции почек. Это также может способствовать усилению воспаления и окислительного стресса.

DNMT1 (ДНК-метилтрансфераза 1) это ключевой фермент, участвующий в поддержании паттернов метилирования ДНК. Его активность отражает состояние эпигенетической регуляции в клетках. У пациентов с пост-НВВ-инфекцией активность DNMT1 в лизатах лейкоцитов была повышена по сравнению со здоровыми лицами. Это свидетельствует о том, что даже после клинического разрешения инфекции сохраняются значительные эпигенетические изменения, которые могут быть связаны с остаточным воспалением или дисрегуляцией иммунных механизмов. При хронической НВВ-инфекции активность DNMT1 в лизатах лейкоцитов еще больше увеличивается и превышает показатели здоровых лиц. Это указывает на усиление эпигенетических нарушений, которые могут способствовать хронизации инфекции, подавлению противовирусного иммунного ответа и активации провоспалительных процессов. У пациентов с циррозом печени активность DNMT1 несколько снижается по сравнению с хронической НВВ-инфекцией, но остается выше, чем у здоровых лиц и пациентов с пост-инфекцией. Это умеренное снижение может быть связано с гипометилированием, которое наблюдается при прогрессировании фиброза и цирроза. Гипометилирование может отражать глобальную дезорганизацию эпигенетических процессов на фоне тяжелого повреждения печени. 5-mdC — маркер общего уровня метилирования ДНК, который отражает эпигенетическую стабильность клеток. У пациентов с пост-НВВ-инфекцией уровень 5-mdC в лизатах

лейкоцитов был повышен по сравнению со здоровыми лицами. Это указывает на устойчивые эпигенетические изменения, которые сохраняются даже после элиминации вируса. При хронической HBV-инфекции уровень 5-mdC продолжал расти и превышал показатели здоровых лиц. Это подтверждает, что хроническое воспаление и персистенция вируса сопровождаются значительными эпигенетическими нарушениями. У пациентов с циррозом печени уровень 5-mdC умеренно снижался по сравнению с хронической HBV-инфекцией, но остается выше, чем у здоровых лиц и пациентов с пост-инфекцией. Это снижение может быть связано с гипометилированием, которое характерно для поздних стадий заболевания. Гипометилирование может отражать глобальную дестабилизацию эпигенетических процессов на фоне тяжелого повреждения печени и фиброза.

Выводы: Провоспалительные цитокины (TNF- α , IL-1 β , IL-1 α , IL-33) играют ключевую роль в патогенезе хронического гепатита В и его осложнений. Их гиперпродукция коррелирует с тяжестью воспаления, фиброза и цирроза печени. Дефицит противовоспалительного IL-10 способствует неконтролируемому воспалению и прогрессированию заболевания, что делает его потенциальным маркером риска фиброза и цирроза. HMGB1 и мочевая кислота являются важными медиаторами воспаления и повреждения тканей, их уровни коррелируют с тяжестью заболевания. Повышение активности DNMT1 и уровня 5-mdC в лизатах лейкоцитов при пост-HBV-инфекции и хронической HBV-инфекции свидетельствует о значительных эпигенетических изменениях, которые могут способствовать хронизации инфекции и нарушению иммунного ответа. Умеренное снижение DNMT1 и 5-mdC при циррозе отражает глобальную дезорганизацию эпигенетических процессов на фоне тяжелого повреждения печени. Это может быть связано с гипометилированием, изменением клеточного состава и усилением окислительного стресса.

Использованная литература:

1. Chen, N., Sun, Y., Luo, P., Tang, Y., Fan, Y., Han, L., & Wang, K. Association of CXCR4 gene expression and promoter methylation with chronic hepatitis B-related fibrosis/cirrhosis //International Immunopharmacology. – 2024. – Т. 139. – С. 112686.
2. Costa, D., Simbrunner, B., Jachs, M., Hartl, L., Bauer, D., Paternostro, R., ...&Reiberger, T. Systemic inflammation increases across distinct stages of advanced chronic liver disease and correlates with decompensation and mortality //Journal of Hepatology. – 2021. – Т. 74. – №. 4. – С. 819-828.
3. Gagnidze K., Pfaff D. W. Epigenetic mechanisms: DNA methylation and histone protein modification // Neuroscience in the 21st century: from basic to clinical. – Cham: Springer International Publishing, 2022. – С. 2677-2716.
4. Gerhard, G. S., Malenica, I., Llaci, L., Chu, X., Petrick, A. T., Still, C. D., & DiStefano, J. K. Differentially methylated loci in NAFLD cirrhosis are associated with key signaling pathways //Clinical Epigenetics. – 2018. – Т. 10. – С. 1-9.
5. Koyama, Y., & Brenner, D. A. Liver inflammation and fibrosis //The Journal of clinical investigation. – 2017. – Т. 127. – №. 1. – С. 55-64.
6. Li, K., Qin, L., Jiang, S., Li, A., Zhang, C., Liu, G., ...& Zhang, Y. The signature of HBV-related liver disease in peripheral blood mononuclear cell DNA methylation //Clinical Epigenetics. – 2020. – Т. 12. – С. 1-13.
7. Marzinke M. A., Dufour D. R. Laboratory diagnosis of liver disease //Contemporary Practice in Clinical Chemistry. – Academic Press, 2020. – С. 545-559.
8. Stoffers, P., Guckenbiehl, S., Welker, M. W., Zeuzem, S., Lange, C. M., Trebicka, J., ...&Welsch, C. Diagnostic and prognostic significance of cell death markers in patients with cirrhosis and acute decompensation //PLoS One. – 2022. – Т. 17. – №. 2. – С. e0263989.
9. Trebicka, J., Fernandez, J., Papp, M., Caraceni, P., Laleman, W., Gambino, C., ...&Özdoğan, O. C. PREDICT identifies precipitating events associated with the clinical course of acutely decompensated cirrhosis //Journal of hepatology. – 2021. – Т. 74. – №. 5. – С. 1097-1108.
10. Zhang, Y., Petropoulos, S., Liu, J., Cheishvili, D., Zhou, R., Dymov, S., ...&Szyf, M. The signature of liver cancer in immune cells DNA methylation //Clinical epigenetics. – 2018. – Т. 10. – С. 1-17.