

## ВЗАИМОСВЯЗЬ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА И ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ В У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

© 2011 В.А. Кельцев, О.В. Чурбакова

Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 26.09.2011

В статье рассматриваются иммунные факторы, влияющие на патогенез хронического вирусного гепатита В у детей и подростков. Проводились исследования сыворотки крови детей, больных хроническими вирусными гепатитами В в репликативной и интегративной фазе на соотношение цитокинового профиля и клеточного звена иммунитета. Отмечено, что показатели цитокинов в интегративной фазе более ярко выражены, чем в репликативной. Выявлена зависимость уровня цитокинов от состояния системы иммунитета при хроническом вирусном гепатите В у детей и подростков.

Ключевые слова: *хронические вирусные гепатиты, репликативная фаза, интегративная фаза, цитокиновый профиль, система иммунитета*

На современном этапе в структуре заболеваемости детей по медико-социальной значимости первое место занимают хронические инфекции с высоким риском возможных осложнений. К таким заболеваниям относятся хронические вирусные гепатиты (ХВГ) – медленно прогрессирующие хронические инфекции, протекающие, как правило, с фиброзированием ткани [1]. В настоящее время особенно остро стоит вопрос заболеваемости хроническим вирусным гепатитом В (ХВГВ) у детей и подростков, так как происходит омоложение HBV-инфекции, что может привести к увеличению числа хронических форм поражения печени в ближайшие десятилетия.

Несомненно, важная роль в развитии хронического течения вирусных гепатитов принадлежит иммунной системе. В патогенезе, течении и исходах парентеральных гепатитов ведущая роль отводится иммунным механизмам [2]. В развитии и исходах ХВГ решающее значение имеет состояние организма ребенка, в частности, его иммунной системы. Особенности взаимоотношений с иммунной системой определяют как разнообразие клинических форм заболевания, так и исходов ХВГ. Иммунодиагностика при всех процессах имеет значение для изучения этиопатогенеза заболевания, прогнозирования обострения, для выбора метода лечения и оценки его эффективности

[3]. Считается, что иммуноопосредованные механизмы играют главнейшую патогенетическую роль в развитии хронических вирусных гепатитов В. При этом центральная роль в регуляции развития как местного иммунного ответа в месте локализации возбудителя, так и общей реакции организма на патоген принадлежит цитокинам [4]. Высокое содержание цитокинов может быть обусловлено нарушением процесса их инактивации в печени при ХВГ [5-7]. В соответствии с поставленными задачами и учитывая данные, полученные при клинико-биохимическом обследовании детей и подростков, нами проведено исследование состояния иммунной системы у больных с ХВГВ. Была выявлена зависимость уровня цитокинов от состояния системы иммунитета при хроническом вирусном гепатите В у детей и подростков.

**Цель работы:** изучить иммунологические особенности ХВГВ у детей и подростков в зависимости от фазы заболевания и оценить взаимосвязь цитокинового профиля и клеточного звена иммунитета.

**Материалы и методы исследования.** Мы исследовали состояние клеточного звена иммунитета и цитокиновый профиль у 87 детей и подростков с ХВГВ. Больные были в возрасте от 7 месяцев до 18 лет. В соответствии с поставленным диагнозом больные ХВГВ были разделены на 2 фазы: репликативную и интегративную. Из обследованных детей у 34,5% с ХВГВ наблюдалась фаза репликации, у остальных больных была фаза интеграции.

*Кельцев Владимир Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской педиатрии. E-mail: Keltzev@mail.ru*  
*Чурбакова Ольга Владимировна, кандидат медицинских наук. E-mail: o\_churbakova@mail.ru*

Диагноз ставился в соответствии с современными требованиями, с учетом классификации хронических гепатитов (Лос-Анжелес, 1994) и МКБ 10 пересмотр (Международная статистическая классификация, 1995г.). Были проведены клинические наблюдения и исследования с применением общеклинических, биохимических, инструментальных, иммунологических методов, позволяющих получить наиболее полную и объективную информацию о наблюдаемых детях, больных ХВГ. Верификация диагноза проводилась методом ПЦР и ИФА. Иммунологические исследования проводились на базе Института экспериментальной медицины и биотехнологий Самарского государственного медицинского университета. Идентификацию лимфоцитов и их субпопуляций осуществляли стандартным методом непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител (ИКО-86 и ИКО-31), выпускаемых Нижегородским НПК «Препарат», к их поверхностным антигенам (CD). Цитокины в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа с применением наборов реагентов, выпускаемых ООО «Протеиновый контур» (г. Санкт-Петербург, 2004), по прилагаемым инструкциям, результаты выражали в

пг/мл. Полученные в ходе работы данные регистрировались в индивидуальных картах с одновременным кодированием для последующей компьютерной обработки. Для оформления результатов исследований применялись пакеты из системы Microsoft Office-2010 и CorelDraw-13.

**Результаты исследования и их обсуждение:** Этиологическое единство острых и хронических форм вирусных гепатитов позволяет рассматривать их как фазы единого инфекционного процесса, в котором реакции иммунной системы играют решающую роль в развитии той или иной формы повреждения печени [8,9]. По литературным данным в настоящее время ведется активное изучение патологии ХВГ с клинико-иммунологических позиций. В основе патогенеза хронических вирусных гепатитов лежат глубокие нарушения иммунного ответа с дисбалансом количественного и качественного состава иммунокомпетентных клеток, с нарушением их функциональной активности и клеточной кооперации. Результаты определения показателей общего иммунного статуса в сыворотке крови детей и подростков, больных ХВГВ представлены в таблице 1.

**Таблица 1.** Иммунологические показатели крови у детей и подростков, больных ХВГВ, в репликативной и интегративной фазе

Показатели	Формы хронического вирусного гепатита В		
	репликативная фаза	интегративная фаза	контрольная группа
CD 3+ (%)	44,19±1,26**	51,72±0,93*	63,04±1,13
CD 4+ (%)	21,56±0,75***	27,95±1,28*	33,03±1,75
CD 8+ (%)	20,91±1,15*	22,73±0,27	24,2±1,31
CD 4+/CD 8+	1,03±0,08*	1,19±0,05	1,76±0,15
CD 16+ (%)	6,8±1,13***	7,53±1,12**	9,02±1,08
CD 95+ (%)	46,18±0,94**	53,25±1,72***	32,5±3,28

*Примечание:* здесь и далее уровни достоверности различия с контролем: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ .

При анализе иммунограммы мы определили дисбаланс хелперного и супрессорного звеньев иммунитета. Недостаток супрессоров усиливает выработку антител и образование иммунных комплексов, что вызывает аутоиммунные поражения. В наших исследованиях выявлено снижение показателя CD3+ маркера Т-лимфоцитов как в репликативной (44,19±1,26%), так в интегративной фазе (51,72±0,93%). Отмечалось также снижение показателя CD4+ (21,56±0,75% и 27,95±1,28%) CD8+ (20,91±1,15% и 22,73±0,27%) как в репликативной, так и в интегративной фазе соответственно. Наблюдалось снижение показателя CD8+ в обе фазы: в репликативной – 20,91±1,15%, в интегративной – 22,73±0,27%.

Концентрация CD8+-лимфоцитов имела небольшую тенденцию к снижению по сравнению с контрольной группой. Соотношение CD4+/CD8+ значительно снижено 1,03±0,08 в репликативной фазе по отношению к контрольной группе.

Проведенные исследования показали, что у этих больных в фазе репликации с выраженной биохимической активностью достоверно снижается количество CD3+, CD4+, отмечается гипосупрессия CD 8+, соотношение CD 4+/CD8+ значительно снижено. Выявлено снижение показателя CD16+ в обе фазы по сравнению с контрольной группой: в репликативной – 6,8±1,13%, в интегративной – 7,53±1,12%. Наиболее выражен показатель

CD95+ в репликативной фазе  $46,18 \pm 0,94\%$  по сравнению с интегративной –  $53,25 \pm 1,72\%$ . Это говорит о наибольшей выраженности апоптоза молекулы CD95+ в интегративной фазе, что говорит об ослаблении иммунной системы.

Также нами было проведено исследование сыворотки крови детей, больных ХВГВ в репликативной и интегративной фазах на соотношение уровня цитокинов (табл. 2).

**Таблица 2.** Соотношение уровня цитокинов при ХВГВ у детей и подростков

Цитокины	Хронические вирусные гепатиты		Контрольная группа, пг/мл
	ХВГВ РФ	ХВГВ ИФ	
ИЛ-1	$13,75 \pm 1,01^{***}$	$9,82 \pm 0,52^*$	$6,26 \pm 0,27$
ИЛ-4	$3,19 \pm 0,16^{***}$	$2,0 \pm 0,11^{***}$	$7,18 \pm 0,56$
ИЛ-6	$16,85 \pm 1,24^{***}$	$41,85 \pm 1,64^{***}$	$5,82 \pm 0,49$
ИЛ-8	$58,1 \pm 2,21^{***}$	$78,88 \pm 2,21^{***}$	$5,73 \pm 0,95$
ИЛ-10	$14,95 \pm 0,66^{**}$	$4,42 \pm 0,12^{***}$	$16,37 \pm 0,32$
ИФН- $\gamma$	$2,88 \pm 0,15$	$22,91 \pm 1,43^{***}$	$3,19 \pm 0,84$
ФНО- $\alpha$	$69,1 \pm 2,7^{***}$	$27,79 \pm 0,71^{***}$	$3,71 \pm 1,02$

Из представленной таблицы видно, что наибольшие значения ИЛ-1 мы наблюдали в репликативной фазе ХВГВ ( $13,75 \pm 1,01$  пг/мл). ИЛ-4 – противовоспалительный цитокин – в обе фазы остается в пределах нормы, но несколько выше в фазе репликации по сравнению с фазой интеграции ( $3,19 \pm 0,16$  пг/мл и  $2,0 \pm 0,11$  пг/мл). Более повышенные показатели ИЛ-6 в интегративной фазе ХВГВ –  $41,85 \pm 1,64$  пг/мл, чем в репликативной –  $16,85 \pm 1,24$  пг/мл, соответственно. ИЛ-8 усиливает повреждение и фиброзирование печени. Более повышенные показатели цитокинов в интегративной фазе ХВГВ ИЛ-8 –  $78,88 \pm 2,21$  пг/мл, чем в репликативной –  $58,1 \pm 2,21$  пг/мл, соответственно. Показатели ИЛ-10 в обе фазы ХВГВ находятся в пределах нормы –  $14,95 \pm 0,66$  пг/мл и  $4,42 \pm 0,12$  пг/мл в репликативной и интегративной фазе соответственно. При ХВГВ у детей в репликативной фазе показатель ИФН- $\gamma$  ниже, чем в интегративной, и составил  $2,88 \pm 0,15$  пг/мл и  $22,91 \pm 1,43$  пг/мл, соответственно. Уровень ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови у обследуемых детей был наиболее повышен в интегративной фазе –  $69,1 \pm 4,53$  пг/мл.

Рассмотрим взаимосвязь клеточного звена иммунитета и цитокинового профиля при ХВГВ у детей и подростков. Т-клетки CD4+ играют важную роль в индукции цитотоксических Т-лимфоцитов. Активация Th1, продуцирующих интерферон- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$  ведет к стимуляции функций Т-лимфоцитов и макрофагов и развитию иммунного ответа по клеточному типу, который играет решающую роль в защите от внутриклеточных возбудителей, включая вирусы. В нашем случае ИФН- $\gamma$  повышен в

интегративной фазе и ФНО- $\alpha$  повышен в обе фазы, что привело к снижению показателя CD4+. ИЛ-8 продуцирует Т-лимфоциты. Так как вышеуказанный интерлейкин повышен, а показатель CD3+ по сравнению с контрольной группой в обе фазы снижен, это говорит о снижении данного показателя иммунитета в обе фазы.

Т-клетки CD8+ могут подавлять репликацию вируса в пораженных клетках, секретируя ИФН- $\gamma$  и ряд других цитокинов. В нашем случае ИФН- $\gamma$  повышен только в интегративной фазе. По литературным данным цитотоксические CD8+-клетки связаны с мембранно-ассоциированными молекулами ФНО- $\alpha$ , которые у нас повышены в обе фазы. Соответственно показатель CD8+ в обе фазы снижен. Снижение показателей CD4+, CD8+ у детей и подростков с ХВГВ свидетельствует о том, что Т-клеточный пролиферативный ответ на антигены вирусов гепатита В является достаточно слабым.

CD16+ – это рецептор, экспрессируемый на мембранах NK-клеток (естественных киллеров). Он является важным эффекторным механизмом противовирусной резистентности. NK-клетки, также как и Т-лимфоциты, служат источником образования ИФН- $\gamma$ . Показатели CD16+ в обе фазы снижены. Стойкое угнетение Т-клеточного звена, резкий дисбаланс иммунорегуляторных клеток в сочетании с толерантностью к вирусу гепатита В определяют прогрессирование патологических процессов в печени, высокую репликативную активность [10].

**Выводы:**

1. При ХВГВ показатель ИЛ-1 в интегративной фазе снизился, поэтому, несмотря на то, что хронизация процесса идет, в прогностическом отношении прогноз более благоприятный. Данный показатель свидетельствует о том, что у ХВГВ более благоприятное течение.

2. Особенности ХВГВ являются диссоциации между уровнем провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО-α и противовоспалительных ИЛ-4, ИЛ-10. Это свидетельствует о дезинтеграции воспалительного процесса с переходом в хроническое течение.

3. При ХВГВ у детей и подростков при возрастании ИЛ-4, ИЛ-8, ФНО-α, ИФН-γ происходит снижение показателей CD4+, CD3+, CD8+, CD16+, которые участвуют в Т-клеточном звене иммунитета.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:**

1. *Маткивский, Р.А.* Медико-социальные факторы, определяющие особенности течения и исходы хронических вирусных гепатитов у детей / *Р.А. Маткивский, Е.П. Усанова, С.Н. Шереметьева* и др. // Медицинский альманах. 2010. №2 (11). С. 119.
2. *Нагоев, Б.С.* Некоторые аспекты иммунопатологии при хронических гепатитах / *Б.С. Нагоев, Ж.Б. Понежева* // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2009. №6. С. 45-48.
3. *Хаитов, Р.М.* Оценка иммунного статуса человека в норме и при патологии / *Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин* // Иммунология. 2001. №4. С. 4-6.
4. *Шахгильдян, И.В.* Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика) / *И.В. Шахгильдян, М.И. Михайлов, Г.Г. Онищенко*. – М.: 2003. С. 12.
5. *Учайкин, Н.Ф.* Вирусные гепатиты от А до ТТV у детей / *Н.Ф. Учайкин, Н.И. Нусевич, Т.В. Черденченко*. – М.: Новая волна, 2003. 432 с.
6. *Ярилин, А.А.* Основы иммунологии / *А.А. Ярилин*. – М.: Медицина, 1999. 608 с.
7. *Falasca, C.* Cytokine patterns correlate with liver damage in patients with chronic hepatitis B and C / *K. Falasca, C. Ucciferri, M. Dalessandro et al.* // *Ann. Clin. Lab. Sci.* 2006. Vol. 36. P. 144-150.
8. *Логинов, А.С.* Хронические гепатиты и циррозы печени / *А.С. Логинов, Ю.Е. Блок*. – М.: Медицина, 1987. 268 с.
9. *Jaheway, C.A.* The immune system in health and disease / *C.A. Jaheway, P. Travers* // *Immunol.* 1996. N 2. P. 311-313.
10. *Бондаренко, А.Л.* Роль HLA-фенотипа в формировании хронической HCV-инфекции / *А.Л. Бондаренко, С.В. Барамзина* // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2002. № 3. С. 40-42.

**INTERRELATION OF THE CELLULAR PART OF IMMUNITY AND CYTOKINES PROFILE AT CHRONIC VIRUS HEPATITIS B AT CHILDREN AND TEENAGERS**

© 2011 V.A. Keltsev, O.V. Churbakova

Samara State Medical University

In article the immune factors influencing on pathogenesis of chronic virus hepatitis B at children and teenagers are considered. Researches of blood serum of children with chronic virus hepatitis B in replicative and integrative phase on parity of cytokines profile and cellular part of immunity were conducted. It is noticed that cytokines indicators in integrative phase are more brightly expressed, than in replicative one. Dependence of cytokines level from condition of immunity system is revealed at chronic virus hepatitis B at children and teenagers.

Key words: *chronic virus hepatitises, replicative phase, integrative phase, cytokines profile, immunity system*

*Vladimir Keltsev, Doctor of Medicine, Professor, Head of the Faculty Pediatrics Department. E-mail: Keltzev@mail.ru*  
*Olga Churbakova, Candidate of Medicine. E-mail: o\_churbakova@mail.ru*