

616.36-002.2-053.2:612.017.1

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В В РЕПЛИКАТИВНУЮ ФАЗУ У ДЕТЕЙ, ОТВЕТИВШИХ И НЕ ОТВЕТИВШИХ НА ПРОТИВОВИРУСНУЮ ТЕРАПИЮ

© 2012 В.А. Кельцев, О.В. Чурбакова

Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 05.09.2012

В статье рассматриваются иммунные факторы, влияющие на патогенез хронического вирусного гепатита В у детей. Проводились исследования сыворотки крови детей, больных хроническими вирусными гепатитами В в репликативную фазу для определения иммунологического статуса. Были изучены иммунологические показатели детей, ответивших и не ответивших на противовирусное лечение. В иммунном статусе больных регистрировались признаки комбинированной иммунной недостаточности. При анализе иммунограммы выявлен дисбаланс как клеточного, так и гуморального звеньев иммунитета.

Ключевые слова: *хронические вирусные гепатиты, репликативная фаза, противовирусное лечение*

Эпидемиологическая ситуация заболеваемости хроническими вирусными гепатитами у детей остается важной и пока нерешенной проблемой общества. Инфекция, вызываемая вирусом гепатита В (HBV) – одно из наиболее часто встречаемых инфекционных заболеваний [1]. На сегодняшний день для назначения терапии большое значение имеет изучение патологии хронических вирусных гепатитов (ХВГ) с клинико-иммунологических позиций. По литературным данным в реализации инфекционного процесса при вирусных гепатитах одним из важных факторов является состояние иммунной системы. Нарушения иммунного статуса сопровождают фактически все патологические процессы и нередко приобретают важную, или даже ведущую роль в патогенезе заболеваний, в том числе и при ХГ [2]. Если рассматривать иммунологические аспекты в патогенезе в развитии и исходах ХВГ, решающее значение имеет состояние организма ребенка, в частности, его иммунной системы. В патогенезе, течении и исходах парентеральных гепатитов ведущая роль отводится иммунным механизмам [3, 4].

В соответствии с поставленными задачами и учитывая данные, полученные при клинико-биохимическом обследовании, нами проведено исследование состояния иммунной системы

хронического вирусного гепатита В (ХВГВ) в репликативную фазу детей, ответивших и не ответивших на противовирусную терапию.

Цель работы: изучить иммунологические особенности ХВГВ в репликативную фазу у детей, ответивших и не ответивших на противовирусную терапию.

Материалы и методы исследования. Под нашим наблюдением находилось 100 детей с ХВГВ в репликативную фазу в возрасте от 7 месяцев до 18 лет. Давность заболевания составила от 6 месяцев до 14 лет. Диагноз ставился в соответствии с современными требованиями, с учетом классификации хронических гепатитов (Лос-Анжелес, 1994.) и МКБ 10 пересмотр (1995.) (Международная статистическая классификация, 1995). В соответствии с поставленными задачами были проведены клинические наблюдения и исследования с применением общеклинических, биохимических, инструментальных, иммунологических методов, позволяющих получить наиболее полную и объективную информацию о наблюдаемых детях, больных ХВГВ. 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

Кельцев Владимир Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской педиатрии. E-mail: Keltzev@mail.ru

Чурбакова Ольга Владимировна, кандидат медицинских наук, докторант кафедры факультетской педиатрии. E-mail: o_churbakova@mail.ru

их поверхностным антигенам (CD). Полученные в ходе работы данные, регистрировались в индивидуальных картах с одновременным кодированием для последующей компьютерной обработки. Анализ проводился при помощи современных пакетов статистического анализа: STATGRAPHICS Plus for Windows версии 4.0, STATISTICA for Windows версии 8.0. Для работы применялись статистические методы описательной статистики, определения достоверности разницы между данными в основной и контрольной группах на основе расчета критерия Стьюдента. Для оформления результатов исследований применялись пакеты из системы Microsoft Office-2010 и CorelDraw-13.

Результаты исследования и их обсуждение. В своей работе мы обследовали 100 пациентов с ХВГ с определением показателей клеточного иммунитета (содержания основных

популяций лимфоцитов), гуморального иммунитета (определение уровня основных иммуноглобулинов и содержание ЦИК в сыворотке крови): с устойчивым вирусологическим ответом на проведенную терапию – 58 пациентов, не ответившие на противовирусную терапию – 42. Мы оценили характер изменений отдельных популяций и субпопуляций лимфоцитов с оценкой их возможной роли в патогенезе ХВГ в репликативную фазу. При анализе иммунограммы определили дисбаланс хелперного и супрессорного звеньев иммунитета (табл. 1). Недостаток супрессоров усиливает выработку антител и образование иммунных комплексов, что вызывает аутоиммунные поражения. Показатели Т-клеточного звена включали общее количество Т-лимфоцитов (клеток, имеющих поверхностный CD3+ рецептор).

Таблица 1. Иммунологические показатели крови у детей и подростков, больных ХВГ в репликативную фазу

| Показатели | Не ответившие на лечение, n=42 | Устойчивый вирусологический ответ, n=58 | Контрольная группа |
|------------|--------------------------------|---|--------------------|
| CD 3+ (%) | 46,1±2,96*** | 53,4±1,41*** | 63,04±1,13 |
| CD 4+ (%) | 26,2±1,83*** | 30,9±0,8** | 33,03±1,75 |
| CD 8+ (%) | 19,91±1,15*** | 22,3±0,27*** | 24,2±0,81 |
| CD4+/CD8+ | 1,31±0,07* | 1,38±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** | 43,25±1,72*** | 32,5±3,28 |
| HLA-DR (%) | 17,72±1,19** | 19,56 ±0,73* | 23,16±1,54 |
| ЦИК | 153,29±5,07*** | 144,2±7,7*** | 93,5±0,93 |
| Ig A г/л | 1,55±0,07** | 1,49±0,04** | 1,37±0,05 |
| Ig G г/л | 13,3±0,38*** | 11,9±0,21** | 9,80±0,76 |
| Ig M г/л | 1,25±0,06 ** | 1,18±0,05 * | 0,94±0,07 |

Примечание: уровни достоверности различия с контролем: * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001

В исследованиях выявлено снижение показателя CD3+ маркера Т-лимфоцитов в исследуемых группах: у больных не ответивших на противовирусное лечение – 46,1±2,96% и с устойчивым вирусологическим ответом – 53,4±1,41%.

Субпопуляционный состав Т-лимфоцитов: Т-хелперы/индукторы (CD4+). Отмечалось снижение показателя CD4+ у пациентов, не ответивших на противовирусное лечение – 26,2±1,83% и с устойчивым вирусологическим ответом – 30,9±0,8%. В иммунологических показателях у детей, не ответивших на противовирусное лечение, наблюдалось выраженное снижение относительного и абсолютного содержания CD3+ и CD4+ лимфоцитов [5], что подтверждается нашими результатами исследования. CD8+ – Т-лимфоциты представлены субпопуляцией цитотоксических лимфоцитов. 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 [6]. Из табл. 1 видно, что концентрация CD8+ лимфоцитов имела тенденцию к снижению по сравнению с контрольной группой: у пациентов, не ответивших на противовирусное лечение – 19,91±1,15% и с устойчивым вирусологическим ответом – 22,3±0,27%. Выявлены низкие показатели иммунорегуляторного индекса CD4+/CD8+: у больных, не ответивших на противовирусное лечение – 1,31±0,07, с устойчивым вирусологическим ответом – 1,38±0,05. Более низкий показатель иммунорегуляторного индекса у детей, не ответивших на противовирусное лечение, указывает на угнетение Т-хелперной составляющей с большим нарастанием активности хронического гепатита.

Проведенные исследования показали, что в фазу репликации у пациентов, не ответивших на

противовирусное лечение, достоверно снижено количество CD3+, CD4+, соотношение CD4+/CD8+, отмечается снижение CD8+. Это указывает на выраженный иммунодефицит Т-клеточного звена.

CD16+ является важным эффекторным механизмом противовирусной резистентности. NK-клетки также как и Т-лимфоциты служат источником образования ИФН- γ . При ХГВ отмечается снижение количества цитотоксических Т-лимфоцитов [7] и повышение титра CD16+ [8, 9]. Значение показателей CD 16+ ХВГВ был снижен по сравнению с контрольной группой: у не ответивших на противовирусное лечение – $6,8 \pm 1,13\%$ и с устойчивым вирусологическим ответом – $7,53 \pm 1,12\%$. CD95+ - рецептор, индуцирующий Fas-зависимый апоптоз клетки. Содержание CD95+ - лимфоцитов было увеличено во всех группах детей по сравнению с контрольной группой, особенно у не ответивших на противовирусное лечение – $46,18 \pm 0,94\%$. Наибольшая выраженность апоптоза молекулы CD95+ у не ответивших на противовирусное лечение говорит об ослаблении иммунной системы у этой группы больных. Значения показателя HLA-DR были ниже, чем в контрольной группе и составили у больных, не ответивших на противовирусное лечение, – $17,72 \pm 1,19\%$ и с устойчивым вирусологическим ответом – $19,56 \pm 0,73\%$. Снижение HLA-DR+ лимфоцитов может приводить к нарушению представления антигена, что в конечном итоге препятствует развитию приобретенных иммунных реакций [10-13].

Нами выявлен дисбаланс гуморального звена иммунитета в репликативную фазу заболевания при хроническом вирусном гепатите В у детей. Показатели гуморального звена включали содержание ЦИК и количество иммуноглобулинов основных классов А, М, G. В таблице 1 представлены данные о состоянии гуморальных факторов иммунитета у больных с ХВГВ. Содержание Ig А в репликативную фазу было более повышено у пациентов, не ответивших на противовирусное лечение – $1,55 \pm 0,07$ г/л.

Хронические вирусные болезни печени протекают преимущественно с увеличением концентрации Ig G и Ig M [14], что подтверждается нашими результатами. Отмечалась тенденция к повышению содержания Ig G: у больных, не ответивших на противовирусное лечение – $13,3 \pm 0,38$ г/л, с устойчивым вирусологическим ответом – $11,9 \pm 0,21$ г/л. Увеличенное содержание Ig G обусловлено длительным персистированием вируса в организме человека. Содержание Ig M при ХВГВ в репликативную фазу у детей колебалась от $1,18 \pm 0,05$ г/л у детей с устойчивым вирусологическим ответом до $1,25 \pm 0,06$ г/л у

пациентов, не ответивших на противовирусное лечение.

Одним из способов элиминации антигенов при хронических вирусных гепатитах является формирование циркулирующих иммунных комплексов. В то же время их значительное и стойкое повышение может быть показателем предрасположенности к развитию иммунопатологических реакций [15]. По сравнению со здоровыми донорами отмечалось повышение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК): у не ответивших на противовирусное лечение – $53,29 \pm 5,07$ и с устойчивым вирусологическим ответом – $144,2 \pm 7,7$. Выявленное повышение иммунных комплексов может определять прогрессирующее течение хронического вирусного гепатита В.

Выводы:

1. Снижение CD4+, CD8+ у детей с ХВГВ в репликативную фазу свидетельствует о том, что Т-клеточный пролиферативный ответ на антигены вирусов гепатита В является достаточно слабым у не ответивших на противовирусное лечение и усиливается после проведения терапии.
2. Низкие значения содержания CD4+, CD8+ и их соотношения - CD4+/CD8+ говорят о хелперно-супрессорном иммунодефиците.
3. Увеличение сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G и ЦИК свидетельствует о выраженной активации гуморального звена иммунитета в репликативную фазу при ХВГВ у детей.
4. В иммунном статусе больных регистрировались признаки комбинированной иммунной недостаточности, которая проявлялась дисбалансом хелперного и супрессорного звеньев иммунитета и увеличении сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G и ЦИК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. *Пирогова, И.Ю.* Определение стадии фиброза и гистологической активности хронической HBV-инфекции с помощью интегральной оценки неинвазивных методов // Инфекционные болезни. 2010. Т.8, №3. С. 40.
2. *Sibal, A.* Hepatitis C in childhood / *A. Sibal, D. Mishra, M. Arora* // J. Indian. Med. Assoc. 2002. V. 100, №2. P. 93-98.
3. *Нагоев, Б.С.* Некоторые аспекты иммунопатологии при хронических гепатитах / *Б.С. Нагоев, Ж.Б. Понезева* // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2009. №6. С. 45-48.
4. *Хаитов, Р.М.* Оценка иммунного статуса человека в норме и при патологии / *Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин* // Иммунология. 2001. №4. С. 4-6.
5. *Садыкова, Ш.С.* Значение иммунологических показателей в прогнозе эффективности лечения препаратами интерлейкинов 1 β и 2 ХВГ С и В: Автореф. дис... канд. мед. наук. – Алмааты, 2010. 29 с.

6. 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.
7. Молочкова, О.В. Течение гепатита С у детей / О.В. Молочкова, Т.В. Чередниченко, М.О. Гаспарян // Детские инфекции. 2002. № 1. С. 21-23.
8. Птицына, Ю.С. Содержание растворимой формы антигена CD38 в сыворотке больных вирусным гепатитом В / Ю.С. Птицына, И.А. Отмахова, Г.А. Кравченко // Клин. иммунология. 2003. № 3. С. 162-164.
9. Цой, Р.М. Показатели иммунного ответа на антиген вируса гепатита В у жителей северного города / Р.М. Цой, Н. В. Жданюк, И.В. Пак // Иммунология. 2001. № 3. С. 49-51.
10. Лазарева, А.С. Уровень цитокинов и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови в сопоставлении с морфологическими изменениями печени у больных хроническими вирусными гепатитами В и С: автореф. дис. ... к.м.н. – М., 2008. 24 с.
11. Ивашкин, В.Т. Взаимодействие вирусов гепатита В и С с клетками иммунной системы макроорганизма // Клиническая лабораторная диагностика. 2001. № 7. С. 45-48.
12. Кураמיин, Д.Х. Субпопуляции лимфоцитов и уровень провоспалительных цитокинов в крови больных вирусным гепатитом С и сочетанным вариантом С + В / Д.Х. Курамиин, Н.П. Толоконская, В.С. Кожевникова, М.Л. Мальтинский // Микробиология. 2002. №1. С.42-48.
13. Собчак, Д.М. Показатели иммунитета у больных хроническим гепатитом С при различной гистологической активности / Д.М. Собчак, Э.А. Монакова // Клиническая медицина. 2004. №4. С. 15.
14. Подымова, С.Д. Болезни печени: руководство для врачей / С.Д. Подымова. – М.: Медицина, 1998. 703 с.
15. Серов, В.В. Факторы вируса и хозяина в развитии и прогрессировании хронических вирусных гепатитов В и С / В.В. Серов и др. // Российский журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. 2006. № 4. С. 12-23.

THE IMMUNOLOGIC STATUS OF THE CHRONIC VIRUS HEPATITIS B IN THE REPLICATIVE PHASE AT CHILDREN WHO ANSWERED AND HAVE NOT ANSWERED ON ANTIVIRAL THERAPY

© 2012 V.A. Keltsev, O.V. Churbakova

Samara State Medical University

In article the immune factors influencing on pathogenesis of a Chronic Virus Hepatitis B at children are considered. Researches of whey of blood of children sick of a Chronic Virus Hepatitis B in a replicative phase for definition of the immunologic status were carried out. Have been studied immunologic parameters of children who answered and have not answered on antiviral treatment. In the immune status of patients attributes of the combined immune insufficiency were registered. At the analysis immunogram have tap disbalance as cellular, and humoral parts of immunity.

Key words: *chronic virus hepatitis, replicative phase, antiviral treatment*

Vladimir Keltsev, Doctor of Medicine, Professor at the Department of Faculty Pediatrics. E-mail: Keltzev@mail.ru

Olga Churbakova, Candidate of Medicine, Doctoral Candidate at the Department of Faculty Pediatrics. E-mail: o_churbakova@mail.ru