

УДК 612.017.1:616.36-002-022.6-036.12-053.5/6

И.А. Соловьева¹, А.А. Савченко², Г.П. Мартынова¹

¹Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф. Войно-Ясенецкого (660022 г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1), ²НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН (660022 г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г)

СОСТОЯНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ В И С

Ключевые слова: вирусные гепатиты, иммунитет, лимфоциты.

Изучено состояние иммунного статуса у 52 детей 12–17 лет с хроническими вирусными гепатитами В и С. Изменения в системе иммунитета не зависели от этиологического агента и характеризовались понижением реактивности клеточно-го звена при повышении активности гуморального звена иммунной системы. У больных хроническим вирусным гепатитом С, кроме того, выявлено снижение содержания натуральных киллеров, что определяло более выраженное снижение уровня противовирусной защиты организма при этой форме гепатита.

Вирусные гепатиты до настоящего времени остаются одной из актуальных проблем инфекционной патологии: заболеваемость сохраняется на высоком уровне, высока частота перехода в хронические формы. Несмотря на продолжающееся расширение спектра известных гепатотропных вирусов, наибольшей частотой распространения и хронизирующим потенциалом обладают вирусы гепатита В и С [9, 11]. Хронические вирусные гепатиты (ХВГ) В и С являются серьезной социальной проблемой, приводят к инвалидизации и смертности больных, причем 70–85% инфицированных составляют подростки до 19 лет [1, 11]. Из-за вялого малосимптомного течения данная патология представляет трудности для своевременной диагностики и чревата опасностью формирования цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [5, 9, 11].

Согласно современным представлениям, выраженность и характер инфекционного процесса при вирусных гепатитах в значительной степени обусловлены особенностями иммунного ответа. Если при гепатите В повреждение печени вызывается иммунокомпетентными клетками, распознающими вирусные антигены, то в основе патогенеза гепатита С лежит комбинация прямого цитопатического действия вируса и иммуноопосредованных реакций [3, 7, 15]. По мнению большинства исследователей, именно Т-клеточному иммунному ответу принадлежит основная роль в развитии и исходе вирусных гепатитов [4, 15]. Гуморальный ответ определяется по наличию специфических противовирусных антител и аутоантител, причем их уровень зависит от стадии заболевания. При наличии многочисленных исследований, посвященных проблеме ХВГ у взрослых, имеются лишь единичные публикации, затрагивающие анализ состояния иммунитета при данной патологии в детском возрасте.

Материал и методы. Под нашим наблюдением находилось 52 ребенка (37 мальчиков и 15 девочек)

Соловьева Ирина Андреевна – аспирант кафедры детских инфекционных болезней КрасГМУ; e-mail: iasolov@mail.ru.

в возрасте 12–17 лет, страдавших ХВГ. Наблюдение осуществлялось в диспансерном кабинете гепатологического центра на базе инфекционного отделения Городской клинической больницы № 20 им. И.С. Берзона (г. Красноярск). В 35 случаях был диагностирован ХВГ В, у 17 – ХВГ С. Давность процесса на момент обследования варьировала от «впервые выявленного ХВГ» (25%), до 11–15 лет (19%). Чаще длительность заболевания составляла 6–10 лет (32,7%), в 23,3% случаев – 1–5 лет. Все пациенты находились в состоянии ремиссии. Помимо общепринятого клинико-лабораторного, проводилось исследование иммунологического статуса (в лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН). Контролем послужили данные обследования группы из 73 здоровых детей того же полу-возрастного диапазона из детских дошкольных учреждений и детских домов г. Красноярска. В течение 2 месяцев, предшествующих обследованию, эти дети не болели и не получали профилактических прививок.

Выделение общей фракции лимфоцитов осуществляли по общепринятому методу в градиенте плотности фиколл-верографина с последующей очисткой от прилипающих клеток. Популяционный и субпопуляционный состав оценивали с помощью метода непрямой иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител к кластерам дифференцировки (Cluster of Differentiation – CD) CD3, CD4, CD8, CD16, HLA-DR и CD19. Для дополнительной характеристики Т-клеточного звена иммунной системы вычисляли иммунорегуляторный индекс ($CD4^+/CD8^+$) и индекс активации Т-лимфоцитов (HLA-DR⁺/CD19⁺). Концентрацию иммуноглобулинов (Ig) классов А, М и G в сыворотке крови определяли методом иммунодиффузии по Манчини. Состояние гуморального иммунитета характеризовали также уровнями относительного синтеза Ig А (IgA/CD19⁺), Ig М (Ig M/CD19⁺) и Ig G (Ig G/CD19⁺) [2]. Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови изучали методом селективной преципитации в полиэтиленгликоле.

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25-го и 75-го перцентилей (С25 и С75). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc., 2004).

Таблица 1

Состояние клеточного иммунитета у детей с ХВГ

Показатель		Контроль		ХВГ В		ХВГ С	
		Ме	C ₂₅ -C ₇₅	Ме	C ₂₅ -C ₇₅	Ме	C ₂₅ -C ₇₅
Лейкоциты	10 ⁹ /л	5,00	4,00–6,80	5,80 ¹	4,90–7,30	5,20	4,00–7,00
Лимфоциты	%	46,0	40,0–55,0	33,0 ¹	24,0–44,0	34,0 ¹	30,0–39,0
	10 ⁹ /л	2,25	1,60–3,10	1,90	1,52–2,84	1,78	1,24–2,86
CD3 ⁺	%	68,0	62,0–75,0	68,0 ⁰	60,0–78,0	78,0 ¹	70,0–80,0
	10 ⁹ /л	1,63	1,25–2,17	1,37	0,95–2,09	1,31	0,87–2,27
CD4 ⁺	%	44,0	39,5–49,0	39,0 ¹	34,0–46,0	38,0	32,0–46,0
	10 ⁹ /л	1,04	0,71–1,36	0,75 ¹	0,55–1,07	0,71 ¹	0,44–1,05
CD8 ⁺	%	28,0	24,0–31,5	26,0	24,0–30,0	28,0	22,0–30,0
	10 ⁹ /л	0,62	0,47–0,91	0,55 ¹	0,37–0,67	0,45 ¹	0,33–0,80
CD16 ⁺	%	16,0	12,0–18,0	16,0	11,0–20,0	13,0	10,0–16,0
	10 ⁹ /л	0,39	0,23–0,49	0,25	0,14–0,43	0,24 ¹	0,11–0,41
CD19 ⁺	%	12,0	8,5–14,0	18,0 ¹	15,0–22,0	19,0 ¹	18,0–28,0
	10 ⁹ /л	0,28	0,17–0,37	0,38 ¹	0,23–0,50	0,40	0,24–0,63
HLA-DR ⁺	%	17,0	14,0–21,0	24,0 ¹	20,0–26,0	28,0 ¹	23,5–30,5
	10 ⁹ /л	0,38	0,25–0,60	0,47	0,27–0,62	0,48	0,27–0,79
CD4 ⁺ /CD8 ⁺		1,52	1,38–1,79	1,48	1,15–1,74	1,36	1,07–2,20
HLA-DR ⁺ /CD19 ⁺		1,38	1,14–1,63	1,20	1,11–1,46	1,26	1,13–1,48
Лейкоциты/CD3 ⁺		3,19	2,64–3,69	4,48 ¹	2,92–7,18	3,91 ¹	3,48–4,58
Лейкоциты/CD19 ⁺		19,23	14,73–24,51	16,67	12,32–25,06	14,88 ¹	10,82–20,58

¹ Разница по сравнению с контролем статистически значима.

Таблица 2

Состояние гуморального иммунитета у детей с ХВГ

Показатель	Контроль		ХВГ В		ХВГ С	
	Ме	C ₂₅ -C ₇₅	Ме	C ₂₅ -C ₇₅	Ме	C ₂₅ -C ₇₅
Ig A, г/л	1,27	1,00–2,10	3,20 ¹	1,70–4,30	2,00 ¹	1,40–3,00
Ig M, г/л	1,38	1,09–2,13	2,00	1,10–3,50	1,80	1,40–3,00
Ig G, г/л	10,95	8,85–15,20	17,00 ¹	10,40–25,80	18,20 ¹	12,80–21,00
Ig A/CD19 ⁺ , нг/кл.	4,49	3,04–8,02	7,43	4,37–15,23	6,50	2,61–11,82
Ig M/CD19 ⁺ , нг/кл.	4,22	2,99–7,18	5,44	2,35–8,82	4,43	2,53–6,55
Ig G/CD19 ⁺ , нг/кл.	35,60	25,57–66,32	42,29	29,51–85,28	43,33	30,05–94,14
ЦИК, о.е.	9,00	3,00–26,00	30,00 ¹	14,00–92,00	26,00 ¹	18,00–84,00

¹ Разница по сравнению с контролем статистически значима.

Результаты исследования. При анализе состояния иммунного статуса у детей с ХВГ В и ХВГ С обнаружены значительные отклонения показателей от контрольных значений при отсутствии статистически достоверных различий между этими группами больных. Так, независимо от этиологии гепатита снижалось относительное количество лимфоцитов в периферической крови, а также абсолютное количество CD4⁺- и CD8⁺-клеток, при повышении уровня CD19⁺- и HLA-DR⁺-лимфоцитов. Кроме того, только у больных ХВГ В в крови статистически достоверно повышалось абсолютное число CD19⁺-лимфоцитов и снижался относительный уровень CD4⁺-клеток. В то же время у детей с ХВГ С обнаружено увеличение относительного количества CD3⁺-лимфоцитов при снижении абсолютного содержания CD16⁺-клеток. Также независимо от этиологии повышалась величина лейко-Т-клеточного коэффициента и снижалась величина лейко-В-клеточного коэффициента (табл. 1). Изменение показателей, характеризующих

состояние гуморального иммунитета, у больных ХВГ В и С относительно контрольных значений также проходило однонаправленно.

Обсуждение полученных данных. Результаты исследования позволяют заключить, что состояние иммунного статуса у детей с различными ХВГ различается незначительно. В целом оно характеризуется снижением реактивности клеточного звена и повышением активности гуморального звена иммунной системы. При снижении в периферической крови содержания Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов повышается процентное количество В-лимфоцитов и HLA-DR⁺-клеток. Необходимо отметить, что HLA-DR-рецептор экспрессируется на поверхности В-лимфоцитов и активированных Т-лимфоцитов [10, 12]. Так как индекс активации Т-лимфоцитов (HLA-DR⁺/CD19⁺) относительно контроля на нашем материале не изменялся, можно заключить, что повышение количества клеток с HLA-DR-рецептором связано только с В-лимфоцитами.

Особенностью состояния иммунитета при ХВГ С явилось повышение содержания В-лимфоцитов в крови, что также вело к снижению лейко-В-клеточного коэффициента и характеризовало более выраженное увеличение относительного количества данной популяции клеток в общей фракции лейкоцитов. Кроме того, только у детей с ХВГ С выявлено понижение содержания натуральных киллеров. Данная популяция лимфоцитов является барьером на пути инфекции и способна лизировать вирусинфицированные клетки [6, 8, 13]. Снижение содержания натуральных киллеров при ХВГ С отражало большую степень нарушения противовирусной защиты, чем при ХВГ В.

При увеличении количества В-лимфоцитов при ХВГ также выявлялось повышение концентрации Ig А и G. Уровни же относительного синтеза иммуноглобулинов не изменялись, что говорило о выходе в кровоток функционально зрелых, но не активированных клеток. При этом разнонаправленная взаимосвязь между содержанием В-клеток и Ig М, по-видимому, отражала различную динамику данных показателей в инфекционном процессе.

Независимое от этиологического фактора увеличение количества ЦИК могло быть связано с двумя процессами. Во-первых, хроническая вирусная инфекция характеризуется постоянным наличием антигена в организме, что, соответственно, приводит к повышению образования ЦИК. Во-вторых, снижение реактивности клеточного звена адаптивного иммунитета может совпадать с понижением функциональной активности фагоцитирующих клеток, что в свою очередь также ведет к увеличению уровня ЦИК. Известно, что макрофаги и нейтрофильные гранулоциты являются ключевыми клетками, участвующими в утилизации иммунных комплексов из периферической крови [6, 14].

Таким образом, у детей с ХВГ В и ХВГ С обнаружены практически одинаковые изменения в состоянии иммунного статуса, которые характеризуются понижением реактивности клеточного звена при повышении активности гуморального звена иммунной системы. Кроме того, при ХВГ С дополнительно снижается содержание натуральных киллеров, что определяет более выраженное снижение интенсивности противовирусной защиты. Следовательно, противовирусная терапия при хронических вирусных гепатитах должна осуществляться с проведением иммунореабилитационных мероприятий, направленных в первую очередь на стимуляцию клеточного звена иммунной системы.

Литература

1. Арямкина О.Л. Хроническая HBV- и HCV- инфекция и рак печени: клинико-эпидемиологические и дифференциально-диагностические параллели // *Эпидемиол. и инфекц. болезни*. 2006. № 2. С. 36–39.
2. Земсков А.М., Земсков В.М. Дополнительные методы оценки иммунного статуса // *Клиническая лабораторная*

диагностика. 1994. № 3. С. 34–35.

3. Лучиев В.И., Санин Б.И., Жаров С.Н. Вирусный гепатит С – глобальная проблема нашего времени. // *Рос. мед. журн.* 2004. № 3. С. 40–45.
4. Собчак Д.М., Корочкина О.В. Оценка показателей Т-клеточного иммунитета и медиаторов иммунного ответа у больных хроническим гепатитом С // *Эпидемиол. и инфекц. болезни*. 2007. № 2. С. 37–42.
5. Учайкин В.Ф., Чуелов С.Б. Вирусные гепатиты у детей: от прошлого к настоящему // *Детские инфекции*. 2006. № 4. С. 4–8.
6. Ярилин А.А. Основы иммунологии. М.: Медицина, 1999. 608 с.
7. Chen M., Zhang D., Zhen W. et al. Characteristics of circulating T cell receptor gamma-delta T cells from individuals chronically infected with hepatitis B virus (HBV): an association between V (delta) 2 subtype and chronic HBV infection // *J. Infect. Dis.* 2008. Vol. 198, No. 11. P. 1643–1650.
8. Chen Y., Wei H., Sun R. et al. Increased susceptibility to liver injury in hepatitis B virus transgenic mice involves NKG2D-ligand interaction and natural killer cells // *Hepatology*. 2007. Vol. 46, No. 3. P. 706–715.
9. Ergünay K., Gürakan F., Usta Y. et al. Detection of TT virus (TTV) by three frequently-used PCR methods targeting different regions of viral genome in children with cryptogenic hepatitis, chronic B hepatitis and hbs carriers // *Turk. J. Pediatr.* 2008. Vol. 50, No. 5. P. 432–437.
10. Ihan Hren N., Ihan A. T lymphocyte activation and cytokine expression in periapical granulomas and radicular cysts // *Arch. Oral. Biol.* 2009. Vol. 54, No. 2. P. 156–161.
11. Indolfi G., Bartolini E., Azzari C. et al. Intrafamilial transmission of hepatitis C virus: infection of the father predicts the risk of perinatal transmission // *J. Med. Virol.* 2008. Vol. 80, No. 11. P. 1907–1911.
12. Leonardi S., Rotolo N., Vitaliti G. et al. IgE values and T-lymphocyte subsets in children with atopic eczema/dermatitis syndrome // *Allergy Asthma Proc.* 2007. Vol. 28, No. 5. P. 529–534.
13. Martinez J., Huang X., Yang Y. Direct action of type I IFN on NK cells is required for their activation in response to vaccinia viral infection in vivo // *J. Immunol.* 2008. Vol. 180, No. 3. P. 1592–1597.
14. Shenoy A.R., Kim B.H., Choi H.P. et al. Emerging themes in IFN-gamma-induced macrophage immunity by the p47 and p65 GTPase families // *Immunobiology*. 2007. Vol. 212, No. 9–10. P. 771–784.
15. You J., Sriplung H., Geater A. et al. Impact of viral replication inhibition by entecavir on peripheral T lymphocyte subpopulations in chronic hepatitis B patients // *BMC Infect. Dis.* 2008. Vol. 8. P. 123.

Поступила в редакцию 25.07.2009.

IMMUNE STATUS OF CHILDREN WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS B AND C

I.A. Soloviova¹, A.A. Savchenko², G.P. Martynova¹

¹Krasnoyarsk State Medical University named after V.F. Voino-Yasenetsky (1 Partizan Zheleznyak St. Krasnoyarsk 660022 Russia), ²Research Institute of Medical Problems of the North, Siberian branch of the RAMS (3g Partizan Zheleznyak St. Krasnoyarsk 660022 Russia)

Summary – The paper considers the state of immune status in 52 children aged 12 to 17 with chronic viral hepatitis B and C. The immune system changes do not depend on etiological agent and are characterized by decreasing cell and increasing humoral immunity responsiveness. Besides, the patients suffering from chronic viral hepatitis C have the natural killers content reduced that leads to more apparent decrease in the virus protection level.

Key words: viral hepatitis, immunity, lymphocytes.