

© Д.А. Джаррахова

УДК 616.523

Д.А. Джаррахова

ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННОГО ГОМЕОСТАЗА ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ В

Институт педиатрии им. К.Фараджевой, Клинический Медицинский Центр (Баку)

Данная работа является фрагментом НИР «Особенности клинико-иммунологического поражения гепато-билиарной системы новорожденных детей при внутриутробных вирусных инфекциях», № гос. регистрации 0107A200014.

Вступление. Реализация внутриутробной инфекции у новорожденного во многом зависит от состояния его иммунитета. Персистенция инфекционных агентов в ранних периодах онтогенеза является провоцирующим фактором для формирования иммунодефицитных состояний [1, 4, 7, 8].

В последние годы широко признана вирусно-иммунная концепция развития хронических вирусных гепатитов. В основе этих заболеваний лежат нарушения противовирусного иммунитета, во многом зависящие от доминирующего участия клонов Т-лимфоцитов-хелперов (Th) 1-го и 2-го типов, различающихся по спектру продуцируемых цитокинов. Первый из них активизирует клеточное звено, которое играет решающую роль в защите от гепатотропных вирусов, тогда как Th2 стимулирует преимущественно гуморальный иммунитет [2, 3]. Именно нарушение их баланса имеет важное значение в иммунопатогенезе хронизации и прогрессирования вирусных гепатитов [6].

Целью исследования явилось изучение показателей иммунного гомеостаза детей, больных хроническим вирусным гепатитом В.

Объект и методы исследования. Под наблюдением находились 27 детей в возрасте 18 месяцев, больных хроническим вирусным гепатитом В. Больные были разделены на две группы в зависимости от степени активности заболевания. Первая группа включала больных с умеренной, вторая группа – с минимальной активностью патологического процесса. Активность патологического процесса у 11 детей (40,7%) была умеренной, у 16 (59,3%) – минимальной. На момент первого обследования ни один ребенок не получал этиотропную противовирусную терапию.

Клеточный иммунитет оценивался по количеству поверхностных антигенов CD3, CD4, CD8, CD16, CD19 на лимфоцитах периферической крови иммуноцитохимическим методом; состояние гуморального иммунитета изучалось по уровню сывороточных Ig класса А, М, G, выявляемых методом простой иммунодиффузии в геле. Содержание цитокинов в сыворотке крови (TNF- α , IFN- α , IL-4, IL-8) исследовали методом иммуноферментного анализа.

В качестве контрольных значений были использованы показатели иммунного статуса 15 практически здоровых детей того же возраста.

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с применением пакета прикладных программ «Microsoft Excel 2000» [5].

Результаты исследования и их обсуждение. Иммунологическое обследование детей было проведено в возрасте 18 месяцев, когда с полным основанием можно судить о наличии хронического течения заболевания. Анализ полученных результатов показал, что в группе больных детей, как с умеренной, так и с минимальной активностью процесса, отмечался Т-клеточный дефицит (**табл.**).

Индивидуальный анализ показателей иммунного статуса у обследованных больных установил его отклонения от показателей контрольной группы. При этом отмечалось значительное снижение общего числа Т-лимфоцитов ($43,61 \pm 2,54\%$ в 1-й группе, $51,38 \pm 2,96\%$ во 2-й группе против $63,58 \pm 1,73\%$ в контрольной группе, $p < 0,001-0,05$), Т-хелперов ($26,81 \pm 2,13\%$ в 1-й группе, $29,55 \pm 2,87\%$ во 2-й группе против $44,57 \pm 1,91\%$ в контрольной группе, $p < 0,05$) и Т-супрессоров ($12,84 \pm 2,38\%$ в 1-й группе, $14,62 \pm 1,49\%$ во 2-й группе против $22,34 \pm 1,70\%$ в контрольной группе, $p < 0,05$).

Причем уже при минимальной активности процесса наблюдалось снижение субпопуляции CD4⁺ лимфоцитов периферической крови, участвующих в развитии клеточного иммунного ответа и являющихся продуцентом IL-2 – неспецифического сигнала для формирования специфического клона цитотоксических лимфоцитов (CD8⁺).

Указанные изменения в соотношениях Т-клеток приводили к значительному повышению иммунорегуляторного индекса CD4/CD8, который был на 22-29% выше, чем в контрольной группе. Такое повышение иммунорегуляторного индекса связано с выраженным дефицитом Т-супрессоров у обследованных больных.

Также обращает на себя внимание факт значительного снижения общего пула Т-лимфоцитов у больных с умеренной активностью патологического процесса (в 1,4 раза по отношению к контролю, $p < 0,001$) по сравнению с группой больных с минимальной активностью процесса (в 1,2 раза по отношению к контролю, $p < 0,05$), что свидетельствует о четкой взаимосвязи со степенью выраженности воспалительного процесса в печени. Анализ содержания Т-хелперов и Т-супрессоров не выявил каких-либо значительных различий в зависимости от фазы активности патологического процесса. Так, независимо от активности процесса, проходящего в печени, в периферической крови преобладали Т-лимфоциты/хелперы, что очевидно связано с

Характеристика иммунограммы детей с хронической HBV-инфекцией

Показатели	Больные с умеренной активностью процесса (n=11)	Больные с минимальной активностью процесса (n=16)	Контрольная группа (n=15)	Достоверность, P
	1	2	3	
Т-лимфоциты, CD3+ %	43,61 ±2,54	51,38±2,96	63,58±1,73	P1-2 <0,05 P1-3 <0,001 P2-3 <0,05
Т-хелперы, CD4+ %	26,81±2,13	29,55±2,87	44,57±1,91	P1-2 >0,05 P1-3 <0,05 P2-3 <0,05
Т-супрессоры, CD8+ %	12,84±2,38	14,62±1,49	22,34±1,70	P1-2 >0,05 P1-3 <0,05 P2-3 <0,05
Т-киллеры, CD16+ %	9,07±1,42	15,38±1,19	16,51±1,83	P1-2 <0,05 P1-3 <0,05 P2-3 >0,05
В-лимфоциты, CD19+ %	24,55±2,28	15,61±1,20	23,68±2,75	P1-2 <0,05 P1-3 >0,05 P2-3 <0,05
Иммунорегуляторный индекс, CD4+/CD8+ ед.	2,56±0,17	2,43±0,25	1,99±0,13	P1-2 >0,05 P1-3 <0,05 P2-3 <0,05
IgA, г/л	0,33±0,07	0,61±0,06	0,70±0,08	P1-2 <0,05 P1-3 <0,05 P2-3 >0,05
IgM, г/л	1,42±0,27	1,23±0,34	0,53±0,07	P1-2 >0,05 P1-3 <0,001 P2-3 <0,001
IgG, г/л	8,97±0,68	9,16±0,71	5,81±0,64	P1-2 >0,05 P1-3 <0,05 P2-3 <0,05

миграцией цитотоксических Т-лимфоцитов/супрессоров в очаг репликации вируса-возбудителя.

Следовательно, у обследованных больных были выявлены изменения содержания субпопуляций лимфоцитов периферической крови, отвечающих за развитие клеточного иммунного ответа, что, возможно, имеет решающее значение в развитии длительной персистенции вируса и хронизации вирусного гепатита. Снижение относительного количества общих Т-лимфоцитов и Т-хелперов свидетельствует о напряженных реакциях клеточного иммунитета при хронической HBV-инфекции. Изменения в содержании Т-супрессоров могут предполагать как дефект цитотоксической функции лимфоцитов, ведущий к нарушению в клеточно-обусловленном иммунитете, так и повышенную миграцию этих клеток в печень, где они выполняют функцию защиты от HBV. Нарушение гомеостаза в клеточном звене иммунитета у детей с HBV-инфекцией характеризуется трансформацией процессов дифференцировки Т-клеточного звена, приводящих к подавлению обычного иммунного ответа и развитию вторичного иммунодефицитного состояния.

Возникновение, развитие, течение и исходы хронических вирусных гепатитов в значительной мере определяются совершенством механизмов

специфического иммунитета – клеточного и гуморального. Однако, в становлении клинической картины болезни, особенностей течения патологического процесса важную роль играют и неспецифические факторы иммунологической защиты, среди которых внимание привлекают натуральные киллеры (CD16⁺). Натуральные киллеры вовлечены во многие процессы, включая иммунорегуляцию, контроль инфекционных заболеваний, они являются первой линией защиты, лизируя вирусинфицированные клетки. Натуральные киллеры являются основными эффекторами врожденного иммунитета и наряду с нейтрофилами представляют первую линию обороны от чужеродных агентов, обеспечивая реализацию иммунных реакций еще до развития приобретенного иммунитета.

Согласно полученным результатам, у больных при умеренной цитолитической активности процесса установлено существенное снижение числа Т-лимфоцитов/киллеров фенотипа CD16⁺ (до 9,07±1,42% против 15,38±1,19% в группе сравнения и 16,51±1,83% в контрольной группе, p<0,05). Напротив, минимальная цитолитическая активность сочеталась с нормальным количеством CD 16⁺ (15,38±1,19% против 16,51±1,83% в контроле, p>0,05). Таким образом, снижение у всех больных с

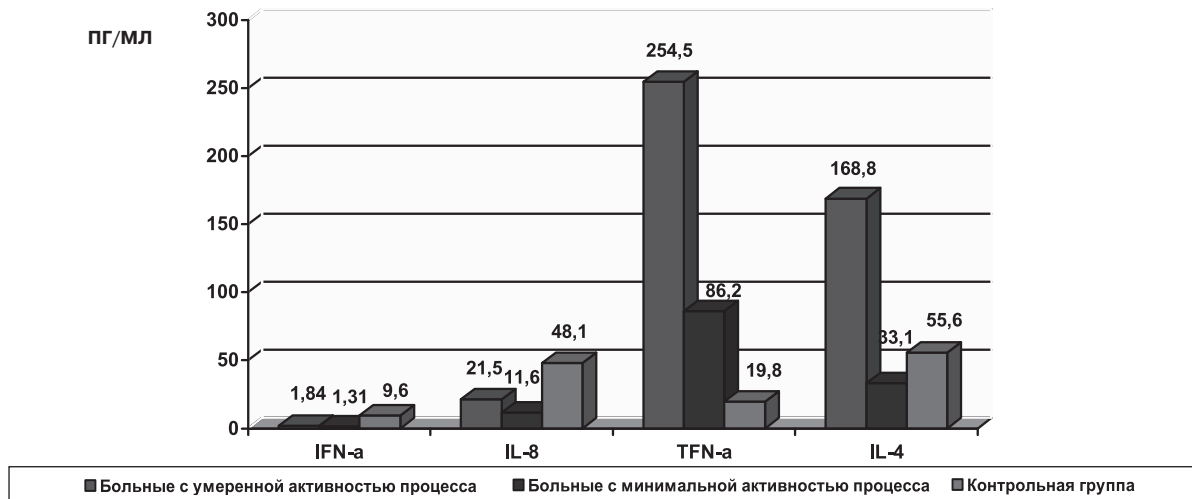


Рис. Содержание цитокинов в сыворотке крови детей с хронической HBV-инфекцией.

умеренной активностью процесса содержания лимфоцитов, экспрессирующих маркеры CD4⁺ и CD16⁺, свидетельствует о недостаточности клеточного звена иммунитета.

В отношении содержания В-лимфоцитов в периферической крови было установлено, что в группе больных с умеренной активностью патологического процесса уровень В-лимфоцитов (CD19⁺) оставался в пределах нормы (24,55±2,28% против 23,68±2,75% в контроле, p>0,05) и снижался в группе больных с минимальной активностью процесса (15,61±1,20% против 23,68±2,75% в контроле, p<0,05).

У обследованных детей, нами также были выявлены особенности продукции иммуноглобулинов в сыворотке крови. При этом уровни иммуноглобулинов классов А, М и G у больных как с минимальной, так и с умеренной активностью процесса были достоверно различны по сравнению с контрольными значениями. Так, умеренная активность цитолитического процесса в печени сопровождалась значительным снижением уровня IgA (0,33±0,07 г/л против 0,70±0,08 г/л в контрольной группе, p<0,05) и повышением IgM (1,42±0,27 г/л против 0,53±0,07 г/л в контрольной группе, p<0,001) и IgG (8,97±0,68 г/л против 5,81±0,64 г/л в контрольной группе, p<0,05) в сыворотке крови. При минимальной активности процесса уровень IgA оставался в пределах нормы (0,61±0,06 г/л, p>0,05) при повышенном синтезе IgM (1,23±0,34 г/л, p<0,001) и IgG (5,81±0,64, p<0,05).

Клеточно-опосредованный иммунный ответ, также как и гуморальный ответ, управляются и регулируются цитокинами. Учитывая важную роль цитокинов в регуляции иммунного ответа, нам представилось интересным изучить изменения цитокинового статуса у больных.

Изучение параметров цитокинового статуса показало, что у обследованных детей наблюдалась выраженная тенденция к снижению IFN-α и существенное снижение уровня провоспалительного цитокина IL-8 в сравнении с данными контрольной группы, не зависимо от фазы активности процесса.

Данное изменение сочеталось с активацией синтеза TNFα, а также IL-4 (рис.).

При этом значительно более высокие показатели регистрировались при умеренной активности процесса. Так концентрация ИЛ-4 в сыворотке крови детей с умеренной активностью патологического процесса была повышена в 3 раза, а TNFα – более чем в 12 раз по сравнению с контролем (p<0,001), что указывает на нарушение баланса регуляторных процессов, ответственных за поддержание нормального уровня клеточной активности.

Одним из условий, способствующих формированию хронического вирусного гепатита, признается изменение в системе α-интерферона, а именно – уменьшение его синтеза в лимфоцитах и макрофагах.

IFN-α играет важнейшую роль в осуществлении противовирусной защиты организма, обладает широким спектром иммунологической активности: стимулирует фагоцитоз, цитотоксическую активность NK-клеток, выработку цитокинов, эффекторных клеток иммунной системы, является мощным ингибитором активной репликации вирусов.

Выработка IFN-α относится к ранним событиям иммунного ответа, осуществляется активированными макрофагами под действием чужеродного антигена. У обследованных детей уровень IFN-α был достоверно низким и составил в фазу умеренной активности – 1 31±0,17 пг/мл (в контроле – 9,6±7,3 пг/мл, p<0,05).

Повышение значений цитокина ИЛ-4 в сыворотке крови больных является косвенным признаком активного участия гуморального иммунного ответа в патогенезе заболевания и способствует активации В-лимфоцитов. Анализ полученных результатов показал, что средняя концентрация в крови IL-4 была в 5 раз выше у больных с умеренной активностью процесса, чем с минимальной.

Об активности воспалительной реакции в ткани печени свидетельствует повышение продукции TNFα. У всех наблюдавшихся больных с умеренной

активностью цитолитического процесса было повышено содержание $TNF\alpha$ в крови в 3 раза по сравнению с больными с минимальной активностью, что является показателем активации макрофагального звена иммунитета и неспецифическим признаком воспаления.

Выводы. Таким образом, у детей, больных хроническим вирусным гепатитом В, отмечены изменения со стороны клеточного, гуморального иммунитета и цитокиновой регуляции, свидетельствующие о выраженности и глубине композиционных нарушений в различных звеньях защиты в единой

биологической системе организма. Полученные результаты позволяют сделать предположение о том, что важен не сам факт повышения или снижения уровня цитокинов, а их динамика и соотношение оппозиционных пулов. Дисбаланс цитокинового статуса поддерживает хроническое иммунозависимое воспаление, а также развитие интерлейкин-зависимого вторичного иммунодефицитного состояния.

Перспективы дальнейших исследований. Проводимые исследования позволят усовершенствовать методы диагностики и лечения детей, больных хроническим вирусным гепатитом В.

Список литературы

1. Баранов А.А. Диагностика и лечение хронических вирусных гепатитов В, С и Д у детей: Пособие для врачей. / А.А. Баранов, Б.С. Каганов, В.Ф. Учайкин [и др.]. - Москва, 2003. - 84 с.
2. Каплина Н.А. Цитокиновый профиль сыворотки крови при хроническом вирусном гепатите В и С у детей / Н.А.Каплина // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2007. - Т. XVII, № 5. - С. 112.
3. Каплина Н.А. Особенности биохимических и иммунологических нарушений при хронических вирусных гепатитах В и С у детей / Н.А. Каплина, Е.И. Шабунина, Е.А. Жукова // Сибирский медицинский журнал. - 2008. - Т. 23, № 1 (Вып. 2). - С.83-88.
4. Нисевич Л.Л. Внутриутробная инфекция: мать – плацента – плод / Л.Л. Нисевич // Детские инфекции. - 2008. - № 2. - С. 9-13.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. М., 2000.
6. Шабунина Е.И. Алгоритм диагностики хронических гепатитов у детей: медицинская технология. / Е.И. Шабунина, Е.А. Жукова, С.В. Переслегина. - Н.Новгород, 2007. - 24 с.
7. Chang M.H. Natural history of hepatitis B virus infection in children / M.H. Chang // J. Gastroenterol. Hepatol. - 2009. - Vol. 15. - P.16-19.
8. Lok A.S. Chronic hepatitis B / A.S. Lok // New Engl. J. Med. 2002. - Vol. 346 - P.1682-83.

УДК 616.523

ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУННОГО ГОМЕОСТАЗУ ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ВІРУСНИЙ ГЕПАТИТ В Джаррахова Д.А.

Резюме. Були вивчені деякі параметри імунного гомеостазу 27 дітей, хворих на хронічний вірусний гепатит В. Встановлено, що у дітей, хворих на хронічний вірусний гепатит В, відмічені зміни з боку клітинного, гуморального імунітету і цитокинової регуляції, що свідчить про вираженість і глибину порушень в різних ланках імунного захисту організму. Різні зміни параметрів імунної системи хворих дітей асоціювалися з різною активністю патологічного процесу.

Ключові слова: вірусний гепатит В, діти, імунітет.

УДК 616.523

ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННОГО ГОМЕОСТАЗА ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ В Джаррахова Д.А.

Резюме. Были изучены некоторые параметры иммунного гомеостаза 27 детей, больных хроническим вирусным гепатитом В. Установлено, что у детей, больных хроническим вирусным гепатитом В, отмечены изменения со стороны клеточного, гуморального иммунитета и цитокиновой регуляции, свидетельствующие о выраженности и глубине нарушений в различных звеньях иммунной защиты организма. Различные изменения параметров иммунной системы больных детей ассоциировались с различной активностью патологического процесса.

Ключевые слова: вирусный гепатит В, дети, иммунитет.

UDC 616.523

The Characteristic Of The Immune Homeostasis Of Children Sick Of The Chronic Virus Hepatitis Of Century Dzharrakhova D.A.

Summary. Some parameters of an immune homeostasis of 27 children sick of a chronic virus hepatitis B specify, that in children with chronic virus hepatitis B have been studied changes from cellular, humoral immunity and cytokine regulation, testifying to expressiveness and depth of infringements in various links of immune protection of an organism are noted. Various changes of parameters of immune system of sick children associated with various activity of pathological process.

Key words: virus hepatitis B, children, immunity.

Стаття надійшла 31.05.2012 р.

Рецензент – проф. Крючко Т.О.