УДК: 616.36-002-053:612.017.1

ПАТОГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУННОГО СТАТУСУ ПРИ ХРОНІЧНИХ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТАХ В І С У ДІТЕЙ

Рикало Н. А.

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова

Хронічні вірусні гепатити (ХВГ) у дітей відносяться до «імунокомпроментуючих» станів, оскільки відомо, що як при ХВГ В, так і при ХВГ С, спостерігаються виразні імунні порушення [1-3, 5, 6]. Як і при всіх інших вірусних інфекціях, інфікування HBV чи HCV викликає закономірну реакцію з боку Т-лімфоцитів, спрямовану на розпізнавання і пригнічення збудника. Відбувається диференціювання субпопуляцій Т-лімфоцитів, співвідношення яких визначає послідовний каскад імунних реакцій [1, 3].

Недосконаліть імунної системи у дітей, особливо першого року життя, визначає особливості патогенезу ХВГ. Перебіг ХВГ В та ХВГ С у дітей, інфікованих протягом першого року життя, а також у підлітків має особливості, які пов'язані з імунною відповіддю та цитокіновою регуляцією, механізми якої розкриті неповністю. Імунні порушення, що розвиваються протягом захворювання, можуть мати важливе значення для становлення імунної системи дитини і прогнозу захворювання.

Мета: провести патогенетичну характеристику показників клітинного і гуморального імунітету у дітей із ХВГ В та С, у залежності від фази реплікації вірусу та активності запального процесу.

Матеріали і методи

Проведено імунологічне дослідження периферичної крові 50 дітей, хворих на ХВГ В і С, віком від 1 до 18 років, до призначення специфічного противірусного лікування. Визначення субпопуляцій CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+, CD25+ проводили методом непрямої імунофлюоресценції з використанням моноклональних антитіл («Діаем», РФ-Москва). Розраховували ступінь імунних розладів (IPI) – співвідношення CD4+ до CD8+. Рівень сироваткових IgA, IgM та IgG визначали методом ІФА (Humareader 2106, США), використовувались реактиви фірми «Гранум» (Україна). Ступінь активності запального процесу встановлювали за активністю АЛТ у сироватці: мінімальна активність (A_1) при підвищені АЛТ у 1,5-2 рази, низька (A_2) – у 3-5 разів, помірна (A_3) – у 6-9 разів, висока (A_4) – більше, ніж у 9 разів [3]. Фазу реплікації (ФР) встановлювали при наявності у сироватці HBeAg, анти-HBc IgM, анти-HCV IgM, ДНК HBV/РНК HCV, у іншому випадку – фазу інтеграції/латентну стадію (ФІ/ЛС).

Результати та обговорення

Установлено, що у дітей, вірус в яких перебував у ФР, зареєстровано достовірне зменшення CD3+ (на 10,3 %), CD4+ (на 22 %), що вказує на стійкий імунодефіцит клітинної ланки імунітету. Зменшення відсотку CD3+ прямо корелює зі зменшенням CD4+ (r=0,98; p<0,001). Відсоток CD8+, які виконують цитотоксичну функцію у відношенні до вірус-інфікованих гепатоцитів, був збільшений (на 12,5 %), що вказує на активацію цитотоксичних реакцій у дану фазу патологічного процесу. Також слід відзначити збільшення відсотку CD25+ (на 42,2 %) (табл.1).

Тоді як у пацієнтів, вірус у яких перебував у ФІ/ЛС, слід відмітити суттєве зниження відсотку CD16+ (на 31 %), що може вказувати на пригнічення цитотоксичних реакцій, спрямованих на знищення інфікованих вірусом клітин у відповідь на припинення реплікації вірусу.

Таблиця 1. Показники клітинної та гуморальної ланки імунітету, залежно від фази захворювання, (M±m)

Показники	Контроль, n=63	ФР, n=34	ФІ/ЛС, n=16	p1-p2
Лімфоцити, %	54,9±1,64	40,0±2,13***	41,20±1,9***	>0,05
CD3+, %	62,4±1,16	56,0±1,75**	53,80±2,25***	>0,05
CD4+, %	36,7±0,72	28,63±1,02***	26,40±1,28***	>0,05
CD8+, %	23,96±0,50	27,37±0,8***	27,20±1,11**	>0,05
CD16+, %	22,67±0,19	22,26±0,89	15,40±0,52***	<0,001
CD22+, %	18,25±0,79	25,68±0,94***	26,80±1,80***	>0,05
CD25+, %	17,67±0,44	25,13±0,95***	26,40±2,16***	>0,05
CD3+/22	3,41±0,02	2,18±0,02***	2,01±0,05***	>0,05
CD4+/8 (IPI)	1,56±0,02	1,04±0,02***	0,97±0,03***	<0,05
IgA, г/л	1,07±0,20	1,57±0,18	1,84±0,33	>0,05
IgM, г/л	0,82±0,06	1,18±0,08***	1,16±0,09*	>0,05
IgG, г/л	11,43±0,46	14,91±1,50**	14,89±1,69**	>0,05

*Примітки: (Тут і в наступній таблиці) * – достовірна відмінність у порівнянні з контрольною групою (* – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001); p1-p2 - достовірна відмінність між групами ФР та ФІ/ЛС.*

Зниження IPI відбувалось як у ФР (на 33 %), так і у ФІ/ЛС (на 38 %). Більш суттєве порушення IPI наставало у дітей із ЛС при ХВГ С та ФІ при ХВГ В (p<0,05) (див. табл. 1). Рівень CD8+ знаходиться в оберненій кореляційній залежності з показником IPI (r=-0,45, p=0,018), тоді як відсоток CD4+ – у прямій

(r=0,38, p=0,049), що підтверджує отримані нами результати. Збільшення відсотку CD22+ вказує на переважання гуморальної ланки імунітету як у ФР (на 41 %), так і у ФІ вірусу (на 47 %). Збільшення відсотку CD8+ прямо корелює з CD22+ (r=0,43, p=0,024) незалежно від реплікативної активності вірусу.

У 1,5 раза ФІ збільшувався відсоток CD25+, які експресують рецептори до ІЛ-2. Збільшення CD25+ прямо корелює з CD8+ (r=0,90, p<0,001) та CD22+ (r=0,85, p<0,001). Тобто, посилення синтезу ІЛ-2, опосередкованим свідченням чого є експресія високоафінних рецепторів до даного цитокіну на Th (CD25+), стимулює проліферацію і диференціювання Т- і В-лімфоцитів у клітини-ефектори, посилює синтез цитокінів і антитіл, активує моноцити і макрофаги, підвищує цитотоксичну активність клітин. Кількість CD8+ та CD22+ в абсолютних величинах також знаходиться в сильних прямих кореляційних зв'язках (r=0,93, p<0,001), що підтверджує нашу думку.

Незалежно від фази патологічного процесу відбувалося зменшення відсотку лімфоцитів, а також їх окремих субпопуляцій (CD3+, CD4+), зростання рівнів імуноглобулінів, особливо IgM та IgG (див. табл.1).

Встановлено, що вміст основних субпопуляцій лімфоцитів та імуноглобулінів у периферичній крові дітей, хворих на ХВГ, певною мірою залежить від активності запального процесу (табл. 2).

Таблиця 2. Показники клітинної та гуморальної ланки імунітету у залежності від активності запального процесу, (M± m)

Показники	Контроль, n=63	A_{0+1}, n=36	A_2, n=6	A_{3+4}, n=8	p2-p3	p2-p4	p3-p4
Лімфоцити, %	54,9±1,64	33,94±1,81***	46,0±7,26	47,0±3,54	<0,05	<0,01	>0,05
CD3+, %	62,4±1,16	55,83±1,71**	58,5±2,51	58,75±3,98	>0,05	>0,05	>0,05
CD4+, %	36,7±0,72	28,44±1,03***	29,5±1,27**	29,50±1,93**	>0,05	>0,05	>0,05
CD8+, %	23,96±0,50	27,33±0,77***	29,0±1,29**	29,25±2,09**	>0,05	>0,05	>0,05
CD16+, %	22,67±0,19	18,78±0,79***	27,0±0,88***	22,50±2,66	<0,001	=0,081	>0,05
CD22+, %	18,25±0,79	26,56±0,83***	25,75±2,53**	24,25±2,93**	>0,05	>0,05	>0,05
CD25+, %	17,67±0,44	27,33±1,04***	26,0±1,76***	23,50±1,77***	>0,05	>0,05	>0,05
CD4+/8 (IPI)	1,56±0,02	1,03±0,05***	1,02±0,04***	1,01±0,05***	>0,05	>0,05	>0,05
IgA, г/л	1,07±0,20	1,72±0,19*	1,85±0,61	1,13±0,22	>0,05	>0,05	>0,05
IgM, г/л	0,82±0,06	1,09±0,07**	1,23±0,17	1,36±0,17**	>0,05	>0,05	>0,05
IgG, г/л	11,43±0,46	16,21±1,27***	19,82±4,90***	12,87±4,27	>0,05	>0,05	>0,05

При A_0 та A_1 зростав відсоток CD22+ (на 46 %). Незалежно від ступеня активності запального процесу, зареєстровано зменшення відсотку CD4+, підвищення – CD22+, CD25+ та імуноглобулінів (див. табл.2). Між показником активності АЛТ та відсотком CD25+ існує прямий кореляційний зв'язок середньої сили (r=0,46, p=0,024), що вказує на посилення цитолізу гепатоцитів, спричинених підвищенням активності цитотоксичних реакцій, обумовлених проліферацію і диференціюванням CD8+.

Отже, зі збільшенням активності запалення відмічається достовірне збільшення відсотку CD8+ та CD16+ (r=0,86, p<0,001), які з одного боку сприяють елімінації вірусу з макроорганізму, а з іншого – спричиняють прогресуюче ураження гепатоцитів, що посилює синдром цитолізу.

Проведений патогенетичний аналіз показників клітинного та гуморального імунітету дозволив дійти до висновку про існування суттєвих вікових відмінностей механізмів розвитку ХВГ у дітей. Одним із найбільш вагомих і постійних імунних порушень при ХВГ В і С у дітей є дефіцит CD4+, що може бути пов'язано з їх апоптозом, перерозподілом чи виснаженням, що призводить до порушення елімінації вірусу [2, 3]. Пригнічення цитотоксичних реакцій у ФІ/ЛС проявлялося меншою кількістю CD16+, що доповнює механізми хронізації ВГ у дітей і узгоджується з даними літератури [3, 4, 5]. Високу частоту хронізації HBV-інфекції при перинатальному інфікуванні дітей першого року життя пов'язують з незрілістю усіх ланок імунітету з виразним імунним відхиленням (Th1<Th2), яка найбільш виразна у дітей даного віку [7].

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. Доведена залежність імунних порушень при ХВГ у дітей від фази реплікації вірусу. Так у ФР відбувалося збільшення числа CD8+, що опосередковано вказує на активацію цитотоксичних реакцій. При зростанні реплікаційної активності вірусу достовірно збільшувався IPI, це доводить, що is situ популяція CD4+ може позитивно регулювати активність CD8+ при ХВГ.
2. Встановлено, що зі збільшенням активності запалення відмічалося достовірне зростання кількості CD8+ та CD16+, які, з одного боку сприяють елімінації вірусу з макроорганізму, а з іншого – спричиняють прогресуюче ураження гепатоцитів, оскільки посилюють синдром цитолізу.
3. Подальше дослідження імунного статусу у дітей, різних вікових груп, хворих на ХВГ В і С дозволить доповнити імунопатогенез даної патології, а також удосконалити патогенетичну терапію даних хвороб.

References:

1. Abdumadzhidova S. Characteristics of changes of lymphocyte subpopulations in children with chronic

hepatitis D and B [Text]/ S. Abdumadzhidova F. I. Inoyatov // Likarska sprava.- 2004.- N 7.-P. 17-20.
2. Filimonov P.N. The relationship of activity of hepatitis, liver fibrosis and imunnogo status in children with chronic hepatitis B + C [Text]/ P.N. Filimonov, N. I. Gavrilov, V. A. Shkurupy, et al. // Journal of Microbiology Epidemiology and Immunobiology.- 2004.- N 2.- P. 50-56.
3. Muhanna N. Activation of hepatic stellate cells after phagocytosis of lymphocytes: a novel pathway of fibrogenesis [Text]/ N. Muhanna, S. Doron, O. Wald et al. // Hepatology.- 2008.- Vol. 48.- P. 963–977.
4. Platt J. Infant transplant resistin fections inimmun ode ficient states [Text]/ J.Platt, B. Ogle, R. Razonable // J. Immunol.- 2006.- Vol. 176, N 3.- P.1962–1967.
5. Rehermann B. Differential cytotoxic T-lymphocyte responsiveness to the hepatitis B and C viruses in chronically infected patients [Text] / B. Rehermann // J. Virology.- 1996.- Vol. 70, N. 10.-P. 7092–7102.
6. Uchaikin V.F.Viral hepatitis A to TTV in children [Text] / V.F. Uchaikin, N.I. Nisevich, T. Cherednychenko // M: New Wave.- 2003, 432 P.
7. Wozniakowska-Gesicka T. Influence of interferon alpha therapy in the count and function of T lymphocytes in children with chronic hepatitis C [Text] / T. Wozniakowska-Gesicka, M. Wisniewska-Ligier, J. Kups et al. // Pol. Mercuriusz. Lek.- 2001.- Vol. 11, N 64.-P. 344–347.

UDC: 616.36-002-053:612.017.1

PATHOGENETIC PROPERTIES OF IMMUNE STATUS AT CHRONIC VIRAL HEPATITIS B AND C IN CHILDREN

Rikalo N.A.

In pathogenesis of chronic viral hepatitis (CVH) B and C in children, there are distinct immune disorders. Purpose: to provide the pathogenic characterization of parameters of cellular and humoral immunity in children with CVH B and C, depending on the phase of viral replication and inflammatory activity.
Materials and methods. An immunological study of peripheral blood of 50 children with CVH B and C, aged 1 to 18 years prior to the appointment of a specific antiviral treatment were conducted. We determined the CD3+, CD4+, CD8 +, CD16+, CD22+, CD25+ cell's population and concentration of IgA, IgM and IgG.
Results and discussion. The significant decrease of CD3+ (in 10,3 %) and CD4+ (in 22%) in the phase of viral replication, indicating a persistent shortage of cellular immunity were established. The increase of CD8+ (in 12,5%) indicate the activation of cytotoxic reactions. In patients with the virus in the phase of integration or latent stage population of CD16+ were reduced in 31%, indicating inhibition of cytotoxic responses aimed at the destruction of virus-infected cells. The immune disorders in children with CVH B and C from the phase of viral replication and inflammatory activity in the liver was proven. Since the phase of replication and the increase of the activity of inflammation was an increase of CD8+, indicating activation of cytotoxic reactions and causes progressive destruction of hepatocytes.
Conclusions: 1. The immune disorders in children with CVH B and C in phase of viral replication are proven. So, there is an increase CD8 +, which indirectly indicates the activation of cytotoxic reactions in the phase of viral replication. With the growth of virus replication activity was significantly intensified the ratio of CD4+/CD8+. This proves that is situ populations of CD4+ could positively regulate the activity of CD8+ at CVH B and C. 2. The increase of the activity of inflammation occurs a significant increase in CD8+ and CD16+, which on the one hand contribute to the elimination of the virus from the microorganism, and the other - causing a progressive lesion of hepatocytes as enhance cytolysis syndrome are established. 3. Further study of the immune status of children of different age groups with CVH B and C supplement will allow immunopathogenesis of the disease, and improve data pathogenetic therapy of diseases.

Keywords: chronic viral hepatitis B and C, children, immune disorders.