

4. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты в клинической практике. Санкт-Петербург, Теза, 1996.
5. Семенов С.И. Эпидемиологические особенности и клиническая характеристика вирусных гепатитов В, С и дельта в Республике Саха (Якутия). Автореф. дисс. д-ра мед. наук. М., 2007.
6. Учайкин В.Ф., Чередниченко Т.В., Смирнов А.В. Инфекционная гепатология: руководство для врачей. М., ГЭОТАР-Медиа, 2014.
7. Шахгильдян И.В., Михайлов М.И., Онищенко Г.Г. Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика). М., ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2003.
8. Mangia A., Thompson A.J., Santoro R. et al. An IL28B polymorphism determines treatment response of hepatitis C virus genotype 2 or 3 patients who do not achieve a rapid virologic response. *Gastroenterology*. 2010, 139: 821-827.
9. Manns M.P. Hepatotropic viruses and autoimmunity. *J. Viral. Hepat.* 1997, 4 (1): 7-10.
10. Tanaka Y., Nishida N., Sugiyama M. et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat. Genet.* 2009, 41: 1105-1109.
11. Thomas D.L. et al. Genetic variation in IL28 B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature*. 2009, 461 (7265): 798-801.

Поступила 10.10.16

Контактная информация: Семенов Сергей Иннокентьевич, д.м.н., Республика Саха (Якутия), 677010, Якутск, Сергеляхское шоссе, 4, корпус С-2, р.т. (411-2)35-32-75

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

С.И.Семенов, А.И.Федоров, С.С.Максимова, К.М.Степанов, Ф.А.Платонов

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУННОГО СТАТУСА БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ФОРМАМИ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ В, С, D И ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

НИИ здоровья Северо-Восточного федерального университета им. М.К.Аммосова, Якутск

Цель. Оценить иммунный статус у больных хроническим гепатитом (ХГ) в зависимости от типа возбудителя и тяжести инфекционного процесса. *Материалы и методы.* Были обследованы 232 жителя Якутии, из них 127 больных разными формами хронического гепатита и 105 здоровых лиц. Исследован относительный уровень содержания зрелых Т-лимфоцитов (CD3⁺), Т-хелперов (CD4⁺), Т-супрессоров (CD8⁺), В-лимфоцитов (CD72⁺) и натуральных киллеров (CD16⁺) методом проточной цитометрии, а также концентрации сывороточных иммуноглобулинов классов А, М и G методом ИФА. *Результаты.* У больных хроническими гепатитами разными форм установлено снижение экспрессии на поверхности лимфоцитов дифференцировочных антигенов — CD3⁺, CD4⁺, CD72⁺ и концентрации сывороточных иммуноглобулинов. У больных ХГD в фазе монорепликации высокая активность инфекционного процесса сопровождается сдвигом иммунорегуляторного индекса (ИРИ) в сторону повышения активности цитотоксических клеток с одновременным развитием дефицита зрелых функционально активных Т-лимфоцитов. В группе больных гепатитом D с циррозом печени при снижении численности Т-хелперов и В-лимфоцитов сохраняется нормальная концентрация сывороточных иммуноглобулинов. *Заключение.* У больных различными формами вирусных гепатитов может возникать приобретенный иммунодефицит, часто сопровождаемый усилением активности НК-клеток.

Отмеченное снижение численности зрелых функционально активных Т-клеток, а также основных классов сывороточных антител, возможно, связанное с нагрузкой на иммунную систему при хроническом инфекционном процессе.

Журн. микробиол., 2017, № 2, С. 92—97

Ключевые слова: вирусный гепатит, иммунный статус, цитотоксические лимфоциты, иммунодефицитное состояние

S.I.Semenov, A.I.Fedorov, S.S.Maksimova, K.M.Stepanov, F.A.Platonov

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF IMMUNE STATUS OF PATIENTS WITH CHRONIC FORMS OF VIRAL HEPATITIS B, C, D AND HEALTHY INDIVIDUALS

Research Institute of Health of Ammosov North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russia

Aim. Evaluate immune status in patients with chronic hepatitis (CH) depending on type of causative agent and severity of the infectious process. *Materials and methods.* 232 residents of Yakutia including 127 patients with various forms of chronic hepatitis and 105 healthy individuals were examined. Relative levels of mature T-lymphocytes (CD3⁺), T-helpers (CD4⁺), T-suppressors (CD8⁺), B-lymphocytes (CD72⁺) and natural killers (CD16⁺) were studied by flow cytometry, as well as concentration of sera immune globulins of classes A, M and G by ELISA. *Results.* In patients with chronic hepatitis of various forms, a decrease of expression of differentiating antigens — CD3⁺, CD4⁺, CD72⁺ on the surface of lymphocytes and concentration of sera immune globulins was established. In CHD patients in phase of monoreplication high activity of the infectious process is accompanied by a shift of immune regulatory index to the increase of activity of cytotoxic cells with simultaneous development of deficiency of mature functionally active T-lymphocytes. In the group of patients with hepatitis D virus with liver cirrhosis normal concentration of sera immune globulins is retained against the decrease of the number of T-helpers and B-lymphocytes. *Conclusion.* In patients with various forms of viral hepatitis acquired immune deficiency can emerge, which is often accompanied by enhancement of NK-cell activity. The noted reduction of the number of mature functionally active T-cells, as well as main classes of sera antibodies could be connected with immune system load during a chronic infectious process.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2017, No. 2, P. 92—97

Key words: viral hepatitis, immune status, cytotoxic lymphocytes, immune deficiency state

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время наиболее распространены и относительно хорошо изучены вирусные гепатиты А, В, С и D. Течение любой вирусной инфекции определяется сложным взаимодействием многих факторов врожденного и адаптивного иммунитета. Эффективность элиминации вируса гепатита В (ВГВ) зависит от интенсивности синтеза антител против HBsAg В-лимфоцитами больного [6]. Обезвреживание вируса происходит в результате действия специфических цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ), Т-хелперов/индукторов, секретирующих провоспалительные цитокины, включая фактор некроза опухоли α (ФНО α) и γ -интерферон (ИФН- γ), подавляющих экспрессию вирусных генов. Особенностью ВГВ является его способность к внутриклеточной персистенции за счет создания мутантных копий генома, что позволяет ему

ускользнуть от иммунного ответа и выживать в условиях противовирусной терапии [1, 8, 11].

Неспособность вирусного гепатита D (ВГD) к самостоятельной репликации в организме хозяина отличает его от других гепатотропных вирусов. Синтез вирусных белков требует обязательного участия поверхностного белка ВГВ (НВsAg). При активном хроническом гепатите В и D происходит снижение количества $CD4^+$ Т-лимфоцитов и нарушение иммунорегуляторного индекса ($CD4^+/CD8^+$) [4, 13]. Изменения иммунных механизмов при гепатите D затрагивают как клеточное, так и гуморальное звенья иммунитета, включая системы мононуклеарных фагоцитов и интерфероногенеза. При этом отмечается выраженный дефицит Т-лимфоцитов, нарушение иммунной регуляции за счет сокращения численности супрессорных клеток и развития выраженного клеточного иммунитета к НВsAg, а также подавление интерфероновой реакции лейкоцитов, при всех клинико-морфологических вариантах болезни наблюдается уменьшение продукции ИФН- γ [5].

Отличительной особенностью вирусного гепатита С (ВГС) является его генетическая неоднородность, способствующая длительной циркуляции инфекционного агента в организме хозяина и развитию хронического воспалительного процесса. По мнению ряда исследователей, решающую роль в формировании клинической картины и исхода ВГС-инфекции играет интенсивность Т-клеточного иммунного ответа [9, 10, 12], тогда как эффективность специфических противовирусных антител в элиминации вируса, в связи с его внутриклеточной локализацией, сильно ограничена [14].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено сравнительное исследование состояния гуморального и клеточного иммунитета на выборке из 232 жителей Якутии. Группу исследования составили 127 человек с разными формами хронического гепатита, а в группу сравнения вошли 105 здоровых лиц. В лимфоцитарной фракции цельной венозной крови определяли относительный уровень содержания зрелых Т-лимфоцитов, экспрессирующих маркеры $CD3^+$, хелперов ($CD4^+$) и супрессоров $CD8^+$, а также В-лимфоцитов ($CD72^+$) и натуральных киллеров ($CD16^+$). В сыворотке крови определяли концентрацию иммуноглобулинов классов А, М и G.

Статистический анализ результатов лабораторных исследований выполнен с помощью пакета статистических программ Statistica 8.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты сравнительного анализа показали, что у больных вирусным гепатитом регистрируется относительный дефицит зрелых функционально активных Т-лимфоцитов ($CD3^+$) и Т-хелперов ($CD4^+$). В среднем, уровень содержания зрелых Т-клеток у больных хроническим гепатитом В составил $37,9 \pm 1,9\%$, у больных микст-инфекцией (В+D) — $42,3 \pm 2,4\%$, у больных хроническим гепатитом С — $41,6 \pm 2,5\%$, что значительно ниже, чем у здоровых лиц из контрольной группы — $52,5 \pm 1,4\%$. Средний уровень содержания Т-хелперов у больных хроническим гепатитом В (ХГВ) составил $23,9 \pm 1,3\%$, у больных гепатитом В+D — $30,8 \pm 3,1\%$, у больных хроническим гепатитом С (ХГС) — $28,5 \pm 1,9\%$, у здоровых лиц — $32,7 \pm 1,1\%$ ($p=0,002$). С другой стороны, у больных ХГВ, В+D и ХГС регистрируется повышенный уровень содержания натуральных киллеров (НК-клеток) — $15,7 \pm 0,8$; $14,8 \pm 1,1$; $18,5 \pm 1,1\%$ соответственно по сравнению с таковым у здоровых лиц ($11,2 \pm 0,9\%$).

В группе больных ХГВ отмечено снижение средней концентрации иммуноглобулинов класса А, М и G, которая соответственно составила $0,5 \pm 0,1$; $0,7 \pm 0,2$ и $5,8 \pm 1,4$ г/л, что более чем в 2 раза ниже, чем у здоровых — $2,2 \pm 0,1$; $1,4 \pm 0,1$ и $10,7 \pm 0,4$ г/л ($p=0$).

Результаты сравнительного анализа уровня содержания субпопуляций Т-лимфоцитов в крови больных с рекомендованными нормами показали, что в крови у 26% больных ХГВ наблюдается дефицит зрелых Т-лимфоцитов и у 55% повышено содержание НК-клеток. Результаты являются статистически значимыми при $\chi^2=39,9$; $p=0$.

В группе больных с ХГД (n 7) на фоне смешанной репликации вирусов В и D отмечалось значительное (до 1,0) снижение ИРИ ($CD4^+/CD8^+$) по сравнению с таковым у здоровых лиц (1,6) с одновременным сокращением популяции Т-хелперов и В-клеток. Уровень содержания В-лимфоцитов в группе больных в среднем составил $15,5 \pm 3,4\%$ ($p<0,05$). Это почти в 2 раза ниже аналогичного показателя в контрольной группе. В крови больных средние концентрации неспецифических иммуноглобулинов классов А и G были также снижены (IgA — $1,05 \pm 0,4$ г/л, IgG — $6,3 \pm 1,2$ г/л) по сравнению с их нормальным уровнем (IgA — 1,3 — 3,1 г/л и IgG — 7,2 — 20,0 г/л.).

Сравнительный анализ показателей клеточного и гуморального иммунитета у больных с различной степенью активности хронического гепатита D в фазе монорепликации показал, что число Т-лимфоцитов у этих пациентов, как правило, находится в пределах нормы, за исключением больных с наиболее выраженным вирусиндуцированным воспалительным процессом.

При высокой степени активности инфекционного процесса уровень относительного содержания Т-лимфоцитов составлял: $CD4^+$ — $26,0 \pm 4,0\%$, $CD8^+$ — $26,0 \pm 2,0\%$, что достоверно ниже соответствующих показателей в контрольной группе ($p<0,01$). ИРИ при этом был равен 1,0. При умеренно выраженной активности процесса эти показатели соответственно составляли: $CD4^+$ — $26,4 \pm 4,5\%$, $CD8^+$ — $36,0 \pm 3,0\%$, ИРИ ($CD4^+/CD8^+$) — 0,75. При слабо выраженной активности инфекционного процесса данные показатели соответственно составляли: $CD4^+$ — $37,0 \pm 10,0\%$, $CD8^+$ — $25,5 \pm 5,5\%$ и ИРИ=1,43. Во всех группах исследования, независимо от степени выраженности индуцированного вирусами инфекционного процесса, средние показатели концентрации сывороточных иммуноглобулинов практически не отличались от таковых в контрольной группе.

При умеренно выраженной активности инфекционного процесса чаще всего отмечается экспрессия $CD8^+$, при слабо выраженной инфекции определяющее значение приобретают лимфоциты, экспрессирующие на своей поверхности молекулы $CD4^+$, в число которых входят Th1-клетки, ответственные за развитие иммунного ответа по клеточному типу, секрецию ИЛ-2 и ИФН- γ . Они составляют до 60% от общего количества $CD4^+$ Т-лимфоцитов.

У 15 больных хроническим гепатитом D, страдающих циррозом печени, отмечалось снижение как относительного, так и абсолютного числа клеток с фенотипом $CD3^+$ ($p<0,001$), $CD4^+$ ($p<0,001$) и $CD70^+$ ($p<0,001$). При этом число цитотоксических Т-лимфоцитов не отличалось от такового у лиц из контрольной группы ($26,1 \pm 2,2\%$ и $36,4 \pm 5,4\%$; $p>0,05$). Наблюдаемая асинхронность изменений численности клеток $CD4^+$ и $CD8^+$ сопровождалась выраженным снижением ИРИ.

У 4 больных, находящихся в нерепликативной фазе, по результатам серологического обследования была диагностирована цитомегаловирусная инфекция. На данной стадии инфекции процентное содержание зрелых

Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов ($69,0 \pm 9,0\%$ и $33,5 \pm 3,5\%$) было сопоставимо с соответствующими показателями у лиц из контрольной группы ($58,0 \pm 7,8\%$ и $26,6 \pm 5,9\%$). Процентное содержание $CD4^+$ - и $CD8^+$ Т-лимфоцитов, а также ИРИ у представителей данной группы было без особенностей. С другой стороны, у некоторых из пациентов в сыворотке крови была обнаружена высокая концентрация IgM.

Результаты анализа иммунологических показателей продемонстрировали, что у больных хроническим гепатитом D в сочетании с B и C формами заболевания, наблюдается активная репликация ВГС с одновременным подавлением размножения ВГD и ВГВ.

У больных ХГD было зарегистрировано статистически значимое сокращение числа не только различных типов Т-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой: $CD3^+$ — $16,0 \pm 2,0\%$, $CD4^+$ — $17,0 \pm 9,0\%$, $CD8^+$ — $14,5 \pm 5,5\%$ против $58,0 \pm 7,1$; $27,2 \pm 4,6$; $28,6 \pm 9,3\%$ ($p < 0,05$), но и В-лимфоцитов ($CD72^+$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Наблюдаемое у больных хроническим гепатитом D снижение экспрессии на поверхности лимфоцитов дифференцировочных антигенов $CD3^+$, $CD4^+$ и $CD72^+$, а также снижение в сыворотке крови концентрации иммуноглобулинов основных изоформ является достоверным признаком дисфункции клеточного и гуморального иммунитета в фазе смешанной репликации ВГВ и ВГD [3].

На основании результатов сравнительного анализа показателей клеточного и гуморального иммунитета у больных хроническим гепатитом D в фазе монорепликации можно сделать вывод, что высокая активность инфекционного процесса, как правило, сопровождается сдвигом иммунорегуляторного индекса в сторону повышения активности цитотоксических клеток с одновременным развитием дефицита зрелых функционально активных Т-лимфоцитов.

В группе больных гепатитом D с циррозом печени сокращение численности Т-хелперов и В-лимфоцитов при сохранении нормальной концентрации иммуноглобулинов А, G, и М, очевидно, может указывать на преобладание в субпопуляции Т-лимфоцитов ($CD4^+$) Th2-клеток, ответственных, как известно, за формирование ответа по антительному (гуморальному) типу. Кроме того, характеристики ИРИ, процентного содержания в крови $CD3^+$ и $CD4^+$ лимфоцитов, а также концентрации иммуноглобулинов свидетельствуют о наличии нарушений регуляторных механизмов клеточного иммунитета в данной группе больных [7].

Высокая концентрация IgM у некоторых больных, находящихся в нерепликативной фазе ХГD, по-видимому, связана с реализацией первичного иммунного ответа на цитомегаловирусную инфекцию, которая была продиагностирована по результатам серологического исследования.

Статистически значимое снижение числа различных субпопуляций Т- и В-лимфоцитов у больных хроническим гепатитом D, возможно, свидетельствует о развитии выраженного иммунодефицита. Это состояние, по-видимому, является следствием истощения функциональных резервов иммунной системы под влиянием вирусной инфекции и характеризуется нарушением процессов пролиферации и дифференцировки лимфоцитов [2].

Таким образом, у больных различными формами вирусных гепатитов может возникать приобретенный иммунодефицит, часто сопровождаемый усилением активности НК-клеток, что, возможно, связано с определяющей ролью

этих клеточных элементов в разрушении и элиминации вирусного агента, имеющего, как известно, внутриклеточную локализацию. Кроме того, у больных гепатитами отмечается значительное снижение численности зрелых функционально активных Т-клеток, в том числе, Т-хелперов, а также основных классов сывороточных антител, связанное, вероятно, с избыточной нагрузкой на иммунную систему при хроническом инфекционном процессе. У больных хронической формой гепатита также обнаружено существенное изменение иммунологической реактивности — увеличение активности ЦТЛ на фоне дефицита зрелых функционально активных популяций лимфоцитов, а также снижение концентрации в крови сывороточных иммуноглобулинов.

Работа проведена в рамках Государственного задания № 17.6344.2017/БЧ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балмасова И.П., Сепиашвили Р.И., Малова Е.С. Молекулярная биология вируса гепатита В и иммунопатогенез хронического вирусного гепатита В. Журн. микробиол. 2016, 2: 119-126.
2. Кетлинский С.А., Калинина Н.М. Цитотоксины мононуклеарных фагоцитов в регуляции реакции воспаления и иммунитета. Иммунология. 1995, 3: 30-42.
3. Кинго З.Н., Яковлев А.А., Виноградова Е.Н. и др. Иммунологическая характеристика больных вирусными гепатитами. Вирусные гепатиты и другие актуальные инфекции. СПб, 1997.
4. Нечаев В.В., Иванов А.К., Пантелеев А.М. Социально-значимые инфекции. СПб, Береста, 2011.
5. Учайкин В.Ф., Нисевич Н.И., Чередниченко Т.В. Вирусные гепатиты у детей. М., 1994.
6. Хронический вирусный гепатит. Под ред. В.В. Серова, З.Г. Апросимовой. М., Медицина, 2004.
7. Яригин А.А., Пинчук В.Г., Гриневич Ю.А. Структура тимуса и дифференцировка Т-лимфоцитов. Киев, 1991.
8. Ganem D., Schneider R.J. Hepadnaviridae: The viruses and their replication. In: Knipe D.M. et al. (ed.). Fields Virology, Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins. 2001, p. 2923-2969.
9. Naoumov N.V. Hepatitis C virus-specific CD4⁺ T cells: do they help or damage? Am. J. Gastroenterol. 1999, 117: 1012-1014.
10. Pawlotski J.M. Pathophysiology of hepatitis C virus infection and related liver disease. Trends Microbiol. 2004, 12: 96-102.
11. Schaefer S. Hepatitis B virus: significance of genotypes. J. Viral. Hepat. 2005, 12 (2): 111-124.
12. Shoukry N.H., Cawthon A.G., Walker C.M. Cell-mediated immunity and the outcome of hepatitis C virus. Ann. Rev. Microbiol. 2004, 58: 391-424.
13. Thio C.L., Seaberg E.C., Skolasky R.J. et. al. Multicenter AIDS cohort study. HIV-1, hepatitis B virus, and risk of leaver-related mortality in the multicenter cohort study. Lancet. 2002, 360: 1921-1926.
14. Yoshioka K., Kakumu S., Hayashi H. et al. Anti-hepatitis C antibodies in patients with chronics non-A, non-B hepatitis: relation to disease progression and effect of interferon alpha. Am. J. Gastroenterol. 1991, 86: 1495-1499.

Поступила 10.10.16

Контактная информация: Семенов Сергей Иннокентьевич, д.м.н., Республика Саха (Якутия), 677010, Якутск, Сергеляхское шоссе, 4, корпус С-2, р.т. (411-2)35-32-75