

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И СТЕПЕНИ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ ПРИ ОСТРОМ ВИРУСНОМ ГЕПАТИТЕ В

Савченко А.А., Цуканов В.В., Родина Д.В., Борисов А.Г.

НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, г. Красноярск

Резюме. С целью изучения иммунологических показателей и способности мононуклеаров крови к синтезу цитокинов в зависимости от степени вирусной нагрузки обследовано 76 больных с острым вирусным гепатитом В (ОВГВ). Наименее выраженные изменения величин иммунологических показателей выявляются при низкой степени вирусной нагрузки. Наиболее выраженные изменения исследуемых показателей обнаружены у больных со средней и высокой степенью вирусной нагрузки. Причем, если у больных ОВГВ со средней степенью вирусной нагрузки выявляется повышение функциональной активности В-лимфоцитов и снижение содержания НК-клеток, то при высокой степени вирусной нагрузки обнаружено максимальное содержание В-лимфоцитов в периферической крови и повышенный уровень CD25-экспрессирующих лимфоцитов. У больных ОВГВ выявляется исходная повышенная активность мононуклеарных клеток к синтезу цитокинов, но при снижении активности мононуклеаров при дополнительной функциональной индукции. С увеличением степени вирусной нагрузки наблюдается снижение уровня спонтанного синтеза TNF α .

Ключевые слова: гепатит В, иммунный статус, γ -интерферон, фактор некроза опухолей- α , уровень синтеза.

Savchenko A.A., Tsukanov V.V., Rodina D.V., Borisov A.G.

INTERRELATIONS BETWEEN IMMUNOLOGICAL ALTERATIONS AND VIRAL LOAD IN ACUTE HEPATITIS B

Abstract. A group of seventy-six patients with acute viral hepatitis B (HB) was under study, in order to evaluate immunological parameters, and ability of blood mononuclear cells to produce cytokines, as dependent on individual viral loads. The immune parameters were less affected in cases of low viral load. Meanwhile, the immune profiles exhibited maximal alterations in the patients with medium and high viral loads. Most expressed changes of immune parameters are found in patients with moderate and high virus load. Meanwhile, moderate HB viral loads are associated with higher functional activity of B-cells and lower NK numbers, whereas high viral loads correlated with increased amounts of peripheral B cells and higher CD25⁺ lymphocyte levels. Increased background cytokine synthesis is revealed in mononuclear cells of the patients with acute HB, being, however, suppressed upon additional functional induction. An increased viral load is associated with decreased basal levels of TNF α synthesis. (*Med. Immunol.*, 2011, vol. 13, N 2-3, pp 181-188)

Keywords: hepatitis B, immune profile, interferon- γ , tumor necrosis factor- α , production levels.

Адрес для переписки:

Савченко Андрей Анатольевич,
НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН
660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка,
3Г.
Факс: (391) 228-06-83.
E-mail: aasavchenko@yandex.ru

Введение

Вирусный гепатит В — широко распространенная инфекция человека, отличается многообразием клинических проявлений и исходов заболевания. Прогрессирование болезни зависит от продолжающейся репликации вируса в печени и состояния иммунной системы больно-

го [5, 15]. Вирус не оказывает прямого цитопатического действия, лизис инфицированных гепатоцитов определяется иммунным ответом хозяина [1, 8, 12]. Недостаточность лизиса инфицированных вирусом гепатоцитов объясняется различными механизмами, она может быть связана с усиленной супрессорной функцией лимфоцитов, дефектом цитотоксических лимфоцитов, увеличенным уровнем апоптоза специфических Т-лимфоцитов, наличием блокирующих антител на клеточной мембране, а так же недостатком синтеза цитокинов. В настоящее время, доказано, что активность иммунного ответа при остром вирусном гепатите В (ОВГВ) в значительной степени определяется оптимальным соотношением популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов, интенсивностью апоптоза Т-клеток и уровнем продукции ключевых цитокинов [4, 9, 10]. При этом обсуждается, что интенсивность иммунного ответа также может зависеть от уровня вирусной нагрузки.

Целью нашей работы было изучение иммунного ответа и способности мононуклеаров периферической крови к синтезу цитокинов у больных ОВГВ в зависимости от степени вирусной нагрузки.

Материалы и методы

Обследовано 76 пациентов инфекционных больниц г. Красноярск с диагнозом «острый вирусный гепатит В, среднетяжелое течение» (31 женщина и 45 мужчин). Диагноз ОВГВ устанавливался при помощи стандартных клинико-биохимических методов и верифицировался обнаружением с помощью иммуноферментных методов специфических маркеров — HBsAg, HBeAg, специфических иммуноглобулинов G и M к HBsAg, общих антител к HbeAg и вирусной ДНК. Из обследования исключались лица, инфицированные другими вирусами гепатитов и вирусом иммунодефицита человека. В качестве контроля обследовано 106 здоровых людей (49 женщин и 57 мужчин). Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с этическими нормами Хельсинской Декларации (2001 г.).

ДНК ВГВ выявляли методом полимеразной цепной реакции с использованием флуоресцентно-меченых гибридизационных зондов («ДНК-технология», Москва). Популяционный и субпопуляционный состав лимфоцитов крови оценивали с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител к CD3, CD4, CD8, CD6, CD20, CD25, HLA-DR, CD95. Для дополнительной характеристики Т-клеточного звена иммунной системы вычисляли соотношение $CD4^+/CD8^+$ и индекс

активации Т-лимфоцитов ($HLA-DR^+/CD20^+$). Концентрацию иммуноглобулинов А, М и G в сыворотке крови определяли методом радиальной иммунодиффузии в агарозном геле по Манчини. Состояние гуморального иммунитета характеризовали также уровнем относительно-го синтеза IgA ($IgA/CD20^+$), IgM ($IgM/CD20^+$) и IgG ($IgG/CD20^+$) [2]. Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови изучали методом селективной преципитации в полиэтиленгликоле.

Спонтанная и индуцированная продукция интерферона- γ ($IFN\gamma$) и фактора некроза опухоли- α ($TNF\alpha$) оценивалась иммуноферментным методом с использованием тест-систем производства Вектор-Бест (г. Новосибирск) после *in vitro* инкубации цельной крови с индуктором синтеза цитокинов фитогемагглютинином (ФГА) и рекомбинантным HBsAg (вакцина HBVax II производства Merk Sharp Doun, США) в CO_2 -инкубаторе в течение 24 часов.

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C_{25} и C_{75}). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни. Различия между показателями спонтанного и индуцированного уровней синтеза цитокинов в каждой обследуемой группе людей определяли по U-критерию Вилкоксона. Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции по Спирмену. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., 2001).

Результаты

При обследовании больных ОВГВ установлено, что содержание ДНК ВГВ в сыворотке крови характеризуется следующими статистическими характеристиками: Me = $3,40 \times 10^4$ копий ДНК/мл, C_{25} = $1,90 \times 10^3$ копий ДНК/мл, C_{75} = $5,25 \times 10^5$ копий ДНК/мл, минимальное содержание = 0 копий ДНК/мл, максимальное содержание = $1,44 \times 10^{10}$ копий ДНК/мл. Взаимосвязей содержания ДНК ВГВ с иммунологическими показателями и спонтанной и индуцированной продукцией $IFN\gamma$ и $TNF\alpha$ не обнаружено. Исходя из распределения количества ДНК ВГВ, мы разделили всех больных ОВГВ на три подгруппы: с низкой степенью вирусной нагрузки (ниже уровня соответствующего величине C_{25}), со средней степенью вирусной нагрузки (лица с интерквартильным размахом ДНК ОВГВ: C_{25} – C_{75}) и с высокой степенью вирусной нагрузки (выше уровня соответствующего величине C_{75}). Показатели количества ДНК ВГВ в сыворотке

ТАБЛИЦА 1. КОЛИЧЕСТВО МОЛЕКУЛ ДНК ВГВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ОВГВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СТЕПЕНИ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ (Me, C₂₅-C₇₅)

Группы больных ОВГВ		ДНК ВГВ, копий ДНК/мл	Р
1. Низкая степень вирусной нагрузки, N = 19	Me	$0,00 \times 10^0$	
	C ₂₅ -C ₇₅	$0,00 \times 10^0 - 1,00 \times 10^3$	
2. Средняя степень вирусной нагрузки, N = 38	Me	$3,40 \times 10^4$	P ₁ < 0,001
	C ₂₅ -C ₇₅	$7,00 \times 10^3 - 2,30 \times 10^5$	
3. Высокая степень вирусной нагрузки, N = 19	Me	$4,50 \times 10^7$	P _{1,2} < 0,001
	C ₂₅ -C ₇₅	$5,80 \times 10^6 - 3,50 \times 10^9$	

Примечание. P₁ – статистически достоверные различия с группой больных ОВГВ с низкой степенью вирусной нагрузки; P₂ – статистически достоверные различия с группой больных ОВГВ со средней степенью вирусной нагрузки.

крови у больных ОВГВ в зависимости от степени вирусной нагрузки представлены в таблице 1.

При исследовании состояния клеточного звена иммунной системы установлено, что у боль-

ных ОВГВ независимо от степени вирусной нагрузки снижено процентное содержание циркулирующих лимфоцитов в периферической крови (табл. 2). Причем максимальное снижение со-

ТАБЛИЦА 2. СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ОВГВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЯЖЕСТИ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ (Me, C₂₅-C₇₅)

Показатели	Контроль (n = 106) 1		Низкая вирусная нагрузка (n = 19) 2		Средняя вирусная нагрузка (n = 38) 3		Высокая вирусная нагрузка (n = 19) 4	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	5,75	4,80-7,50	6,70	5,20-7,00	6,25	5,00-7,30	6,30	4,70-7,30
Лимфоциты, %	36,0	29,0-45,0	32,0	18,0-36,0	27,0	21,0-31,0	33,0	24,0-36,0
			P ₁ < 0,05		P ₁ < 0,001		P _{1,3} < 0,05	
CD3 ⁺ лимфоциты, %	66,0	60,0-72,0	62,0	55,0-70,0	64,0	54,0-70,0	60,0	52,0-60,0
							P ₁ < 0,01	
CD4 ⁺ лимфоциты, %	42,0	34,0-48,0	35,0	24,0-38,0	35,0	26,0-41,0	30,0	24,0-36,0
			P ₁ < 0,01		P ₁ < 0,001		P ₁ < 0,001	
CD8 ⁺ лимфоциты, %	27,0	21,0-34,0	27,0	25,0-30,0	28,0	24,0-33,0	26,0	23,0-34,0
CD20 ⁺ лимфоциты, %	14,0	10,0-17,0	16,0	14,0-20,0	19,5	12,0-23,0	20,0	16,0-22,0
			P ₁ < 0,05		P ₁ < 0,001		P ₁ < 0,001	P ₂ < 0,05
CD25 ⁺ лимфоциты, %	11,5	7,0-16,0	11,5	2,0-14,0	10,0	5,0-12,0	17,5	5,0-18,0
							P ₃ < 0,05	
CD56 ⁺ лимфоциты, %	17,0	13,0-21,0	17,0	10,0-21,0	12,0	7,0-16,0	12,0	3,0-16,0
					P _{1,2} < 0,05		P _{1,2} < 0,05	
HLA-DR ⁺ лимфоциты, %	17,0	13,0-21,0	20,0	13,0-24,0	20,0	16,0-22,0	19,0	12,0-22,0
					P ₁ < 0,05			
CD95 ⁺ лимфоциты, %	14,0	10,0-20,0	10,5	7,0-12,0	8,0	3,0-13,0	20,0	18,0-20,0
					P ₁ < 0,01		P _{1,2} < 0,05	P ₃ < 0,01
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,50	1,10-1,86	1,25	0,81-1,46	1,07	0,81-1,53	1,18	0,74-1,41
			P ₁ < 0,05		P ₁ < 0,01		P ₁ < 0,01	
HLA-DR ⁺ /CD20 ⁺	1,29	0,93-1,53	1,00	0,86-1,04	1,06	1,00-1,86	0,97	0,43-1,16
							P _{1,3} < 0,05	

Примечание. P₁ – статистически достоверные различия с показателями контрольной группы; P₂ – статистически достоверные различия с показателями больных ОВГВ с низкой степенью вирусной нагрузки; P₃ – статистически достоверные различия с показателями больных ОВГВ со средней степенью вирусной нагрузки.

ТАБЛИЦА 3. СОСТОЯНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ОВГВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЯЖЕСТИ ВИРУСНОЙ НАГРУЗКИ (Me, C₂₅-C₇₅)

Показатели	Контроль (n = 106) 1		Низкая вирусная нагрузка (n = 19) 2		Средняя вирусная нагрузка (n = 38) 3		Высокая вирусная нагрузка (n = 19) 4	
	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅	Me	C ₂₅ -C ₇₅
IgA, г/л	2,13	1,32-3,20	3,10	2,50-3,50	3,45	2,80-4,30	3,20	2,40-4,20
			P ₁ < 0,001		P ₁ < 0,001		P ₁ < 0,001	
IgM, г/л	1,25	0,60-1,80	2,00	1,40-2,10	2,00	1,50-2,20	2,20	1,20-2,60
			P ₁ < 0,001		P ₁ < 0,001		P ₁ < 0,001	
IgG, г/л	11,20	8,60-15,00	14,40	12,00-16,00	15,85	12,80-18,10	16,90	10,80-18,20
			P ₁ < 0,001		P ₁ < 0,001		P ₁ < 0,001	
IgA/CD20 ⁺ , нг/клетку	6,73	3,83-13,29	11,11	4,95-15,38	12,99	8,38-18,43	8,96	4,13-10,32
			P ₁ < 0,05		P ₁ < 0,001		P ₁ < 0,05	
IgM/CD20 ⁺ , нг/клетку	4,29	1,65-11,00	5,69	3,79-8,51	6,95	4,35-10,47	5,85	2,45-7,20
					P ₁ < 0,05			
IgG/CD20 ⁺ , нг/клетку	39,12	25,29-66,67	48,98	34,38-59,52	58,15	35,87-83,72	44,94	19,37-67,66
					P ₁ < 0,01			
ЦИК, о.е.	30,00	15,00-70,00	29,00	4,00-124,00	35,00	22,00-104,00	37,00	14,00-88,00

Примечание. См. таблицу 1.

держания лимфоцитов выявляется при средней степени вирусной нагрузки, минимальное снижение — при высокой степени вирусной нагрузки. При этом у больных ОВГВ с высокой степенью вирусной нагрузки выявляется относительно повышение содержания лимфоцитов относительно показателей больных со средней степенью вирусной нагрузки. Также независимо от степени вирусной нагрузки в периферической крови больных ОВГВ снижается относительное количество CD4⁺ лимфоцитов с понижением величины соотношения CD4⁺/CD8⁺ и повышено процентное содержание CD20⁺ клеток. Однако у больных ОВГВ с высокой степенью вирусной нагрузки выявляется максимальное содержание CD20⁺ лимфоцитов.

Только у больных со средней и высокой степенью вирусной нагрузки в периферической крови снижается относительное содержание CD56⁺ лимфоцитов как относительно контрольного диапазона, так и уровня, выявленного при низкой степени вирусной нагрузки. Характерной особенностью у больных со средней степенью вирусной нагрузки является повышение процентного содержания HLA-DR⁺ клеток и снижение относительного количества CD95⁺ лимфоцитов. В то же время только у больных с высокой степенью вирусной нагрузки повышается про-

центное содержание CD95⁺ лимфоцитов, причем относительно уровней, выявляемых у всех обследованных групп. Также, только у больных ОВГВ с высокой степенью вирусной нагрузки относительно контрольного диапазона и уровня, выявляемого при средней степени вирусной нагрузки, снижается величина коэффициента активации Т-лимфоцитов. Только относительно уровня, выявляемого при средней степени вирусной нагрузки, у больных с высокой степенью вирусной нагрузки повышается процентное содержание CD25⁺ клеток.

Менее выражена зависимость исследуемых величин показателей гуморального иммунитета от степени вирусной нагрузки. Так, независимо от вирусной нагрузки у больных ОВГВ повышаются уровни концентраций IgA, М и G в сыворотке крови (табл. 3). Только у больных с низкой и средней степенью вирусной нагрузки повышается уровень относительного синтеза IgA. Только у больных со средней степенью вирусной нагрузки повышаются уровни относительного синтеза IgM и G.

Уровни спонтанного и индуцированного синтеза IFN γ значительно различаются в контрольной группе и у обследованных больных ОВГВ (рис. 1). Наиболее высокие уровни спонтанного синтеза отмечаются в группе больных с высокой степенью вирусной нагрузкой (достоверное

увеличение относительно уровней, выявляемых во всех обследованных группах). В то же время при низкой и средней степени вирусной нагрузки также выявляется повышение уровня спонтанного синтеза IFN γ относительно контрольного диапазона (рис. 1А). При стимуляции ФГА наиболее интенсивный уровень отмечен в контрольной группе (в 114 раз). При низкой и средней степени вирусной нагрузки уровень ФГА-индуцированного синтеза IFN γ повышается в 2,7 и 2,6 раза, соответственно (рис. 1Б). В то же время у больных с высокой степенью вирусной нагрузки воздействие ФГА на мононуклеарные клетки не приводит к изменению уровня синтеза данного цитокина. При стимуляции HBsAg наиболее интенсивный ответ по синтезу IFN γ также выявляется у лиц контрольной группы (увеличение в 11,6 раз) (рис. 1В). У больных ОБГВ с низкой и средней степенью вирусной нагрузки уровень синтеза цитокина при воздействии HBsAg повышается в 1,4 и 1,3 раза, соответственно. При высокой степени вирусной нагрузки выявляется снижение уровня синтеза IFN γ на 14,6% при воздействии HBsAg.

Наиболее высокий уровень спонтанной продукции TNF α отмечается у больных ОБГВ с низкой степенью вирусной нагрузкой (рис. 2А). С повышением степени вирусной нагрузки уровень спонтанного синтеза данного цитокина статистически достоверно снижается. Максимальный уровень повышения синтеза TNF α при воздействии ФГА выявляется у лиц контрольной группы (в 36,0 раз) (рис. 2Б). В группах больных ОБГВ максимальный уровень повышения синтеза TNF α в ответ на воздействие ФГА выявляется в группе с высокой степенью вирусной нагрузки (в 9,7 раза), тогда как минимальный (в 2,1 раза) — у больных со средней степенью вирусной нагрузки. Максимальный уровень повышения уровня синтеза TNF α при воздействии HBsAg также выявляется у лиц контрольной группы (в 16,0 раз) (рис. 2В). Среди групп больных ОБГВ максимальный уровень повышения синтеза TNF α при воздействии HBsAg выявляется у больных с низкой степенью вирусной нагрузки (в 4,2 раза), тогда как при средней и высокой степени вирусной нагрузки в ответ на HBsAg выявляется увеличение синтеза данного цитокина в 1,5 и 2,5 раза, соответственно.

С помощью корреляционного анализа установлено, что в зависимости от степени вирусной нагрузки выявляются взаимосвязи количества ДНК ВГВ с иммунологическими показателями и уровнем синтеза исследуемых цитокинов. Так, у больных с низкой степенью вирусной нагрузки количество копий ДНК положительно взаимосвязано с уровнями абсолютного содержания

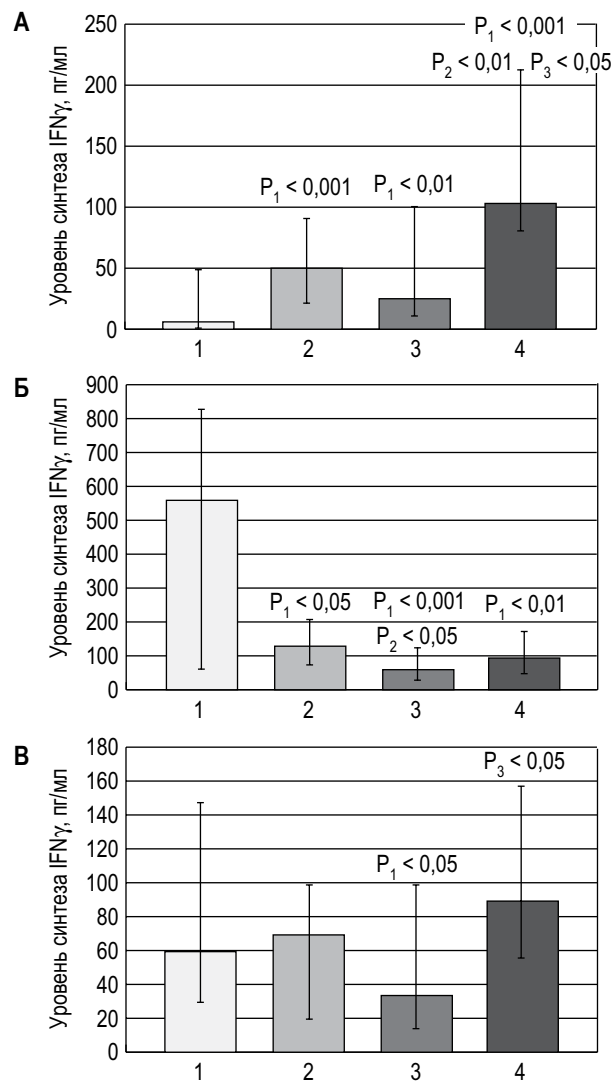


Рисунок 1. Уровень спонтанного (А) и ФГА- (Б) и HBsAg-индуцированного (В) синтеза IFN γ в крови у больных ОБГВ в зависимости от степени вирусной нагрузки

Примечание. 1 – контроль; 2 – низкая степень вирусной нагрузки; 3 – средняя степень вирусной нагрузки; 4 – высокая степень вирусной нагрузки.

P_1 – статистически достоверные различия с показателями контрольной группы; P_2 – статистически достоверные различия с показателями больных ОБГВ с низкой степенью вирусной нагрузки; P_3 – статистически достоверные различия с показателями больных ОБГВ со средней степенью вирусной нагрузки.

CD8 $^+$ лимфоцитов ($r = 0,50$; $P < 0,05$) и концентрацией IgM ($r = 0,53$; $P < 0,05$) в сыворотке крови. При средней степени вирусной нагрузки обнаружена отрицательная взаимосвязь содержания ДНК ВГВ с уровнем ФГА-индуцированного синтеза TNF α ($r = -0,46$; $P < 0,01$) и положительная — с величиной абсолютного количества CD25 $^+$ клеток ($r = 0,45$; $P < 0,05$). У больных с высокой степенью вирусной нагрузки количество копий ДНК ВГВ положительно коррелирует

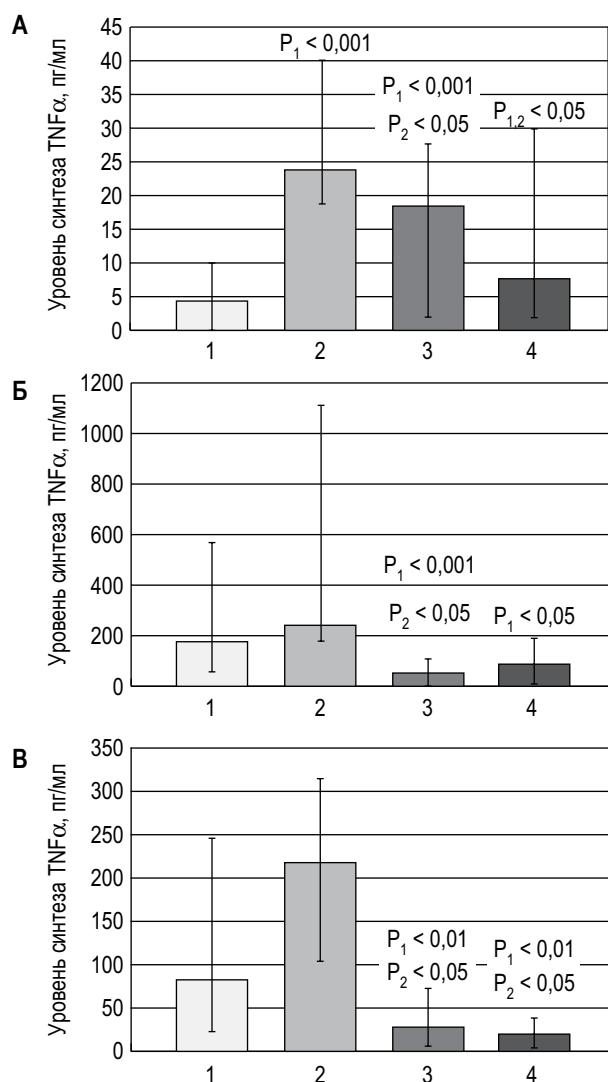


Рисунок 2. Уровень спонтанного (А) и ФГА- (Б) и HBsAg-индуцированного (В) синтеза $TNF\alpha$ в крови у больных ОБГВ в зависимости от степени вирусной нагрузки

Примечание. См. рисунок 1.

с абсолютным содержанием $CD16^+$ лимфоцитов ($r = 0,53$; $P < 0,05$) и отрицательно – с процентным уровнем $CD25^+$ клеток ($r = -0,83$; $P < 0,05$).

Обсуждение

Анализ полученных результатов позволяет определить, что у больных ОБГВ независимо от степени вирусной нагрузки выявляется иммунная недостаточность, определяемая снижением содержания общих лимфоцитов и $CD4^+$ клеток. Также независимо от вирусной нагрузки в периферической крови больных повышается количество В-лимфоцитов, что, в том числе, определяет увеличение концентрации IgA, М и G.

При исследовании состояния иммунного статуса у больных ОБГВ в зависимости от степени вирусной нагрузки обнаружено, что наименее

выраженные изменения иммунного статуса выявляются при низкой концентрации ДНК ВГВ в сыворотке крови (по сравнению с другими группами больных ОБГВ). При этом только у больных данной группы выявляется положительная взаимосвязь количества копий вирусной ДНК в крови и содержанием цитотоксических Т-лимфоцитов и IgM. Наличие данной корреляционной связи характеризует развитие зависимости интенсивности иммунного ответа в диапазоне низкой вирусной нагрузки.

Характерными особенностями иммунного статуса у больных ОБГВ со средней степенью вирусной нагрузки является повышенное содержание $HLA-DR^+$ клеток. Необходимо отметить, что данный рецептор экспрессируется на В-лимфоцитах и является маркером поздней активации Т-лимфоцитов [11, 13]. В связи с этим, для определения с какой клеточной популяцией связано увеличение $HLA-DR^+$ лимфоцитов, мы вычисляли индекс активации Т-лимфоцитов. При этом у больных со средней степенью вирусной нагрузки величина индекса активации Т-лимфоцитов не отличается от контрольных величин. Следовательно, повышенное содержание $HLA-DR$ -экспрессирующих клеток у больных данной группы связано с увеличенным содержанием В-лимфоцитов. Однако именно у больных со средней степенью вирусной нагрузки увеличением содержания в периферической крови В-лимфоцитов определяется повышенным уровнем их функциональной активности (по уровню относительного синтеза иммуноглобулинов).

Кроме того, характерной особенностью иммунного статуса у больных ОБГВ со средней степенью вирусной нагрузки является понижение содержания $CD95^+$ клеток. $CD95^+$ рецептор определяется как маркер готовности клетки реализовать свое развитие через апоптоз (маркер апоптической предуготовленности) [6, 14]. Причем, $CD95$ и $HLA-DR$ -рецепторы определяются как поздние активационные маркеры лимфоцитов.

Только у больных ОБГВ со средней и высокой степенью вирусной нагрузки в периферической крови повышается содержания НК-клеток (по $CD56^+$ рецептору). Известно, что НК-клетки являются одной из ключевой популяции клеток иммунной системы ответственной за противовирусный иммунитет [7]. Снижение содержания данной популяции клеток при средней и высокой степени вирусной нагрузки отражает понижение интенсивности противовирусного иммунитета.

Наиболее выраженные изменения иммунного статуса выявляются при высокой степени вирусной нагрузки. Во-первых, у больных данной груп-

пы выявляется максимальный уровень содержания В-лимфоцитов. Во-вторых, при высокой степени вирусной нагрузки выявляется максимальное количество клеток с CD25⁺ маркером. Известно, что CD25⁺ маркер является низкоаффинным рецептором для интерлейкина-2 (IL-2) [3, 7]. Повышение количества клеток с CD25⁺ маркером у больных ОВГВ с высокой степенью вирусной нагрузки сопровождается увеличением содержания лимфоцитов, экспрессирующих CD95⁺ рецептор. Между тем, именно у больных данной группы выявляется снижение величины индекса активации Т-лимфоцитов. Кроме того, отрицательная взаимосвязь между количеством вирусной ДНК и содержанием CD25⁺ клеток определяет снижение количества клеток, экспрессирующих рецептор к IL-2, при увеличении вирусной нагрузки.

Оценка уровней спонтанного и индуцированного синтеза IFN γ и TNF α позволила установить, что у больных ОВГВ выявляется исходно повышенный уровень синтеза моноклеарными клетками цитокинов. Причем максимальный уровень спонтанного синтеза IFN γ выявляется при высокой степени вирусной нагрузки, тогда как максимальный уровень спонтанного синтеза TNF α выявляется при низкой степени вирусной нагрузки. В то же время, уровень стимуляции при ФГА- и HBsAg-индуцированном синтезе цитокинов является максимальным в контрольной группе. Более того, у больных ОВГВ с высокой степенью вирусной нагрузки при HBsAg стимуляции выявляется снижение уровня синтеза IFN γ . Следовательно, у больных ОВГВ выявляется исходная активация моноклеарных клеток к синтезу, но при снижении уровня функционального резерва при дополнительной индукции активности клеток иммунной системы.

Таким образом, у больных ОВГВ выявляется иммунная недостаточность по клеточному типу при повышении активности гуморального звена иммунной системы. При исследовании иммунологических показателей в зависимости от степени вирусной нагрузки установлено, что наименее выраженные изменения выявляются при низкой степени вирусной нагрузки. По-видимому, низкий уровень вирусной ДНК оказывает слабое влияние на развитие иммунного ответа, что подтверждается результатами корреляционного анализа: только у больных с низкой степенью вирусной нагрузки выявляется положительная зависимость цитотоксических Т-лимфоцитов и IgM от количества вирусной ДНК в сыворотке крови. При средней степени вирусной нагрузки выявляется снижение противовирусного иммунитета за счет понижения содержания NK-клеток, но при повышении функциональной активно-

сти В-лимфоцитов. При высокой степени вирусной нагрузки в периферической крови больных ОВГВ выявляется максимальное содержание В-лимфоцитов и CD25⁺ клеток. При оценке уровней спонтанного и индуцированного синтеза IFN γ и TNF α установлено, что у больных ОВГВ выявляется исходная повышенная активность моноклеарных клеток к синтезу цитокинов, но сниженная активность моноклеаров при дополнительной индукции. При этом выявляется снижение уровня спонтанного синтеза TNF α с увеличением степени вирусной нагрузки.

Список литературы

1. Гончикова С.Ч., Убеева И.П., Николаев С.М. Иммунологические аспекты патогенеза вирусных гепатитов // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. — 2010. — № 2. — С. 17-22.
2. Земсков А.М., Земсков В.М. Дополнительные методы оценки иммунного статуса // Клиническая лабораторная диагностика. — 1994. — № 3. — С. 34-35.
3. Зенин В.В., Аксенов Н.Д., Шатрова А.Н., Марахова И.И. Динамика экспрессии CD25 в лимфоцитах периферической крови человека, стимулированных фитогемагглютинином или интерлейкином-2 // Цитология. — 2009. — Т. 51, № 6. — С. 506-510.
4. Иванова М.Р., Жемухова Р.Х. Цитокиновый профиль у больных острыми вирусными гепатитами В и С // Клиническая лабораторная диагностика. — 2009. — № 3. — С. 41-42.
5. Нагоев Б.С., Отараева Б.И., Рындина Е.И., Иванова М.Р. Клинико-патогенетические особенности острого гепатита В // Инфекционные болезни. — 2008. — Т. 6, № 1. — С. 16-20.
6. Порядин Г.В., Салмаси Ж.М., Казимирский А.Н. Активационные маркеры лимфоцитов как показатели дисрегуляции иммунной системы при воспалении // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2006. — № 1. — С. 2-7.
7. Ярилин А.А. Иммунология. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 752 с.
8. Brooks D.G., Teyton L., Oldstone M.B., McGavern D.B. Intrinsic functional dysregulation of CD4 T cells occurs rapidly following persistent viral infection // J. Virol. — 2005. — Vol. 79, N 16. — P. 10514-10527.
9. Kornek M., Popov Y., Libermann T.A., Afdhal N.H., Schuppan D. Human T cell microparticles circulate in blood of hepatitis patients and induce fibrolytic activation of hepatic stellate cells // Hepatology. — 2011. — Vol. 53, N 1. — P. 230-242.

10. Lee M.J., Jin Y.H., Kim K., Choi Y., Kim H.C., Park S. Expression of hepatitis B virus x protein in hepatocytes suppresses CD8 T cell activity // Immune Netw. – 2010. – Vol. 10, N 4. – P. 126-134.
11. Mouillot G., Carmagnat M., Gérard L., Garnier J.L., Fieschi C., Vince N., Karlin L., Viallard J.F., Jaussaud R., Boileau J., Donadieu J., Gardembas M., Schleinitz N., Suarez F., Hachulla E., Delavigne K., Morisset M., Jacquot S., Just N., Galicier L., Charron D., Debré P., Oksenhendler E., Rabian C. B-cell and T-cell phenotypes in CVID patients correlate with the clinical phenotype of the disease // J. Clin. Immunol. – 2010. – Vol. 30, N 5. – P. 746-755.
12. Ozaras R., Ar C., Ongoren S., Mete B., Tabak F., Mert A., Ozturk R. Acute hepatitis B despite a previous high titer of anti-HBs // Hepatol. Int. – 2010. – Vol. 4, N 2. – P. 530-532.
13. Pagel J.M., Orgun N., Hamlin D.K., Wilbur D.S., Gooley T.A., Gopal A.K., Park S.I., Green D.J., Lin Y., Press O.W. A comparative analysis of conventional and pretargeted radioimmunotherapy of B-cell lymphomas by targeting CD20, CD22, and HLA-DR singly and in combinations // Blood. – 2009. – Vol. 113, N 20. – P. 4903-4913.
14. Tanimura Y., Kon M., Shimizu K., Kimura F., Kono I., Ajisaka R. Effect of 6-day intense Kendo training on lymphocyte counts and its expression of CD95 // Eur. J. Appl. Physiol. – 2009. – Vol. 107, N 2. – P. 227-233.
15. Zhang Z., Jin B., Zhang J.Y., Xu B., Wang H., Shi M., Wherry E.J., Lau G.K., Wang F.S. Dynamic decrease in PD-1 expression correlates with HBV-specific memory CD8 T-cell development in acute self-limited hepatitis B patients // J. Hepatol. – 2009. – Vol. 50, N 6. – P. 1163-1173.
13. Pagel J.M., Orgun N., Hamlin D.K., Wilbur D.S., Gooley T.A., Gopal A.K., Park S.I., Green D.J., Lin Y., Press O.W. A comparative analysis

поступила в редакцию 30.01.2011
отправлена на доработку 13.02.2011
принята к печати 05.03.2011