

© И.Н.Низаметдинов, Г.К.Бекетова, Ш.М.Курьязова, 2005
УДК 616.611-002-036.12-053.2-085.38-06:616.36-002-097

И.Н.Низаметдинов, Г.К.Бекетова, Ш.М.Курьязова

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ, АССОЦИИРОВАННОГО ВИРУСАМИ ГЕПАТИТА НА ФОНЕ ГЕМОДИАЛИЗА

I.N. Nizametdinov, G.K. Beketova, Sh.M. Kuriyazova

IMMUNOLOGICAL CHARACTERIZATION OF CHILDREN WITH CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS ASSOCIATED WITH HEPATITIS VIRUSES AGAINST THE BACKGROUND OF HEMODIALYSIS

Кафедра детских болезней, неонатологии и медицинской генетики Ташкентской медицинской академии, Республика Узбекистан

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬЮ данной работы явилось изучение иммунологической характеристики детей, больных хроническим гломерулонефритом (ХГН), ассоциированным вирусами гепатита, находящихся на лечении гемодиализом. **ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ.** Обследованы 11 детей (основная группа) с ХГН, протекавшей на фоне хронического вирусного гепатита (ХВГ), получающих лечение методом гемодиализа. В эту группу вошли дети в возрасте от 7 до 14 лет. Среди них у 5 больных выявлен вирус гепатита В, у 3 – вирусы гепатита В + С, у остальных 3 – вирус гепатита дельта. Группу сравнения составили 10 детей аналогичного возраста с ХГН без маркеров вирусного гепатита, также находящиеся на лечении гемодиализом. У всех больных изучены показатели клеточного и гуморального иммунитета. Для выявления вирусов гепатита проводили серологические исследования. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** В основной группе больных отмечены более выраженные нарушения иммунологического статуса, что выражалось значительным снижением количества зрелых Т-лимфоцитов. Средние показатели Т-хелперов были примерно одинаковыми. Процент Т-супрессоров был наименьшим в данной группе больных. Количество естественных клеток киллеров мало отличалось в сравниваемых группах. Процент нулевых лимфоцитов был высоким. Изменения в гуморальном иммунитете также были более выраженными в основной группе. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Тяжесть состояния больных обуславливается снижением иммунологических реакций организма, что связано с персистенцией вирусных антигенов. У детей с ХГН на фоне вирусного гепатита, в сравнении с больными с ХГН без маркеров вирусов гепатита, отмечается однонаправленность в изменении показателей иммунитета. Однако в основной группе больных дефицит Т-лимфоцитов, Т-супрессоров более выражен.

Ключевые слова: гломерулонефрит, дети, вирусный гепатит, иммунитет, гемодиализ.

ABSTRACT

THE AIM of the work was to investigate immunological characteristics of children with chronic glomerulonephritis (CGN) associated with hepatitis viruses and treated with hemodialysis. **PATIENTS AND METHODS.** Eleven children (main group) with CGN against the background of chronic virus hepatitis (CVH) were examined. All of them were treated with hemodialysis. The age of the children was from 7 to 14 years. In 5 out of these children the hepatitis B virus was revealed, in 3 - viruses of hepatitis B + C, in other 3 children - the hepatitis-delta virus. A group of comparison consisted of 10 children of the same age with CGN without markers of the hepatitis virus and also treated with hemodialysis. The indices of cellular and humoral immunity were studied in all the patients. Serological investigations were made for the detection of hepatitis viruses. **RESULTS.** More pronounced impairments of the immunological status were noted in the main group of patients evidenced by a considerably decreased number of mature T-lymphocytes. Average indices of T-helpers were almost the same. The percentage of T-suppressors was the least in this group of patients. The number of natural cells killers was of little difference in these groups. The percentage of zero lymphocytes was high. Changes in the humoral immunity were also more pronounced in the main group. **CONCLUSION.** The severity of the patients' state was due to the decreased immunological reactions of organism that was associated with the virus antigen persistence. In the children with CGN against the background of virus hepatitis, as compared with the CGN patients without the hepatitis virus markers, the changes in the indices of immunity were of one direction. But in the main group of patients the deficiency of T-lymphocytes and T-suppressors was more pronounced.

Key words: glomerulonephritis, children, virus hepatitis, immunity, hemodialysis.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время появляется все больше сообщений о причинной взаимосвязи между гломерулярными поражениями и вирусной инфекцией. Согласно современным взглядам, во-первых, вирусы могут действовать непосредственно на гло-

мерулярные структуры, обладая цитотоксическим действием; во-вторых, вирусный антиген может участвовать в иммунной реакции с образованием иммунных комплексов; в-третьих, вирусы могут вовлекаться в аутоиммунные механизмы [1–3].

Одним из важных открытий последнего време-

ни является констатация факта репликации вирусов гепатита В и С (ГВ и ГС) вне печени – в других органах и системах [4]. Размножение вирусов в клетках клубочков и канальцев может изменить антигенную структуру тканей почки, активируя иммунные реакции [3–6].

Целью наших исследований явилось изучение состояния иммунной системы детей с хроническим гломерулонефритом (ХГН), ассоциированным вирусами гепатита на фоне лечения гемодиализом [10].

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Нами проводилось изучение иммунологического статуса 11 детей, больных хроническим гломерулонефритом, ассоциированным вирусами гепатита и находящихся на лечении гемодиализом (основная группа). В эту группу вошли пациенты в возрасте от 7 до 14 лет. Из них у 5 больных установлен вирусный гепатит В (ВГВ), у 3 больных – микст-гепатит В+С, у остальных 3 больных – гепатит дельта – суперинфекция. Группу сравнения составили 10 детей аналогичного возраста с ХГН без маркеров ВГ, находящихся на лечении гемодиализом.

Серологические исследования. Вирусологическую верификацию HBV- и HDV-инфекции проводили на основании обнаружения HBsAg, анти-HBs, HBeAg, анти-HBe, анти-HBc-IgM, анти-HV методом радиоиммунного и иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем «Вектоген Д – антитело стрип», «Векто HBsAg антитело стрип», «Вектоген HBs-антиген стрип». Антитела к вирусу ВГС выявлялись методом ИФА с помощью тест-системы «Рекомби-бест анти-ВГС стрип» с использованием рекомбинантных белков. Использованные тест-системы «Вектор-бест» Российского производства (г. Новосибирск). Исследования проводились в ООО «Тиб диагностика» при Институте Иммунологии АН РУз.

Анализ крови на предмет обнаружения РНК HCV методом ПЦР проводили в ООО «Gentexservis». Использовались коммерческие тест-системы «Авиценна» (г. Москва).

Статистические методы. Результаты всех проведенных исследований обрабатывались методом вариационной статистики на микрокалькуляторе «Casio CS-8L» с расчетом средней арифметической ($\bar{X}$) и средней ошибки (m). Достоверность различий сравниваемых показателей определяли по критерию Стьюдента.

Иммунологические исследования. Оценка иммунного статуса у больных включала тесты на состояние клеточного и гуморального иммуните-

та, фагоцитарную активность. Содержание Т-лимфоцитов определяли методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана по методу Jondal et al. (1973). Определение субпопуляционного состава Т-лимфоцитов проводили с помощью моноклональных антител к дифференцированным антигенам лейкоцитов человека. Зрелые CD4 клетки, функционально характеризующиеся как Т-хелперы, определяли с помощью моноклональных антител LT4, Т-супрессоры (CD8)- LT8. Естественные киллеры (CD16) выявляли с помощью моноклональных антител ЛНК16, В-лимфоциты (CD22)-3F3.

Фагоцитарную активность нейтрофилов (ФАН) периферической крови оценивали по их способности поглощать инертные частицы меламина-формальдегидных латексов размером 1,5-2 мкм. Фагоцитирующими считали нейтрофилы, проглотившие одну или более частиц латекса.

Для определения содержания иммуноглобулинов класса А,М,Г использовали метод радиальной иммунодиффузии (Mancini, 1965). Гелеобразующим материалом служил бактогар, «Difco» (США).

Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) определяли методом преципитации с 3,5%-ным раствором полиэтиленгликоля (ПЕГ). Раствор ПЕГ способен осаждать из сыворотки крови агрегированные иммунные глобулины и иммунные комплексы (Меньшиков, 1987). Уровень ЦИК выражали в условных единицах.

Определение антигенсвязывающих лимфоцитов (АСЛ) производили по методу Ф.Ю.Гариба (1988). Принцип метода заключается в образовании розеток, состоящих из центрально расположенного сенсibilизированного лимфоцита и прикрепленных к нему эритроцитов, предварительно нагруженных антигеном.

Контролем для полученных результатов служили результаты обследования 15 практически здоровых доноров той же возрастной группы, что и обследованные дети. Все исследования проводили в ЦКДЛ ТашПМИ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные нами данные показали, что у больных основной группы имелся глубокий дефицит Т-клеток: относительное их содержание было снижено до $40,7 \pm 1,1\%$ ($P > 0,01$). Кроме этого, наблюдалось снижение относительного содержания Т-хелперов ($P < 0,05$) и Т-супрессоров ($P < 0,001$). Увеличился хелперно-супрессорный индекс ($P < 0,01$) и число нулевых лимфоцитов ($P < 0,001$). ФАН составила $60,3 \pm 3\%$ ($P < 0,05$).

У детей группы сравнения отмечалось умень-

Показатели клеточного иммунитета детей с ХГН на фоне ВГ, получающих ГД ($\bar{X} \pm m$)

Показатели иммунитета	Контроль n=15	Основная группа n=11	Группа сравнения n=10
Т-лимфоциты СД3%	57,44±0,9	40,7±1,1***	45,2±0,6***
Т-хелперы СД4%	35,8±1	30,1±1,8*	31,4±1,7*
Т-супрессоры СД8%	20,3±0,4	11,2±0,9***	13,8±0,6***
СД4/СД8	1,76±0,04	2,87±0,34**	2,3±0,16*
Естественные киллеры СД16%	11,6±1	11,5±1,1	11,2±1,1
Нулевые лимфоциты, %	31,5±0,9	51,1±1,6***	45,8±1,5***

* – достоверность $P < 0,05$ относительно контроля; ** – достоверность $P < 0,01$ относительно контроля; *** – достоверность $P < 0,001$ относительно контроля.

Таблица 1 ние IgG ($P < 0,001$), более выражено, чем у детей с ХГН без маркеров ВГ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ иммунологических нарушений у детей с ХГН, ассоциированного вирусами гепатита В, гепатита В+С и дельта, находящихся на гемодиализе (основная группа) и детей с ХГН без маркеров вирусного гепатита на фоне лечения методом гемодиализа (группа сравнения) показывает однотипность и однонаправленность иммунологических сдвигов. Однако относительное количество зрелых Т-лимфоцитов было достоверно ниже у детей основной группы. Средние показатели относительного количества Т-хелперов у обследуемых детей были примерно одинаковы. Процент же Т-супрессоров был наименьшим у основной группы больных.

Показатели гуморального иммунитета детей с ХГН на фоне ВГ, получающих ГД ($\bar{X} \pm m$)

Показатели иммунитета	Контроль n=15	Основная группа n=11	Группа сравнения n=10	P
В-лимфоциты СД22%	11,06±0,6	8,2±1,2*	8,9±1,1	>0,05
АСЛ к ТА печени %	1,13±0,21	5,2±0,4***	2,2±0,4*	<0,001
АСЛ к ТА почек %	1,24±0,08	5,8±0,6***	4,7±0,4***	>0,05
АСЛ к HBsAg %	1,3±0,25	6,2±0,9***	1,4±0,1	<0,001
IgA, мг%	136±2,6	108±4,5***	1156,5*	>0,05
IgM, мг%	113±3	120±6,1	118±8,5	>0,05
IgG, мг%	1070±25	580±22***	846±36***	<0,001
ЦИК, ед.	68,1±5,8	99±9,3*	74,3±5,6	<0,05

* – достоверность $P < 0,05$ относительно контроля; ** – достоверность $P < 0,01$ относительно контроля; *** – достоверность $P < 0,001$ относительно контроля.

шение относительного содержания Т-лимфоцитов ($P < 0,001$) и Т-хелперов ($P < 0,05$). Отличался от контрольных значений хелперно-супрессорный индекс ($P < 0,05$) и количество нулевых лимфоцитов ($P < 0,001$). ФАН составила $61,8 \pm 1,8\%$ ($P < 0,05$). Данные представлены в табл. 1.

Сопоставление данных основной группы и группы сравнения показало, что у детей основной группы иммунодефицит Т-лимфоцитов был более выражен ($P < 0,01$), более высоким был уровень нулевых лимфоцитов ($P < 0,05$).

Изучение показателей гуморального иммунитета показало, что в основной группе снижено относительное количество В-лимфоцитов ($P < 0,05$). Уровень сывороточных лимфоцитов изменяется, главным образом, за счет снижения IgA и IgG ($P < 0,001$). Указанные изменения сочетаются с увеличением числа АСЛ к ТА печени в 4,9 раза, к ТА почек в 4,5 раза и к HBsAg в 4,8 раза. Уровень ЦИК повышался до $99 \pm 9,3$ ед. ($P < 0,05$).

У детей группы сравнения отмечено снижение уровня IgA ($P < 0,05$) и IgG ($P < 0,001$). Что касается относительного количества АСЛ, то оно увеличилось в 1,9 раза к ТА печени и в 3,8 раза к ТА почек. Данные приведены в табл. 2.

Сравнительный анализ данных основной группы и группы сравнения показал, что у детей с ХГН на фоне ВГ увеличение АСЛ к ТА печени и к HBsAg ($P < 0,001$), уровня ЦИК ($P < 0,05$) и сниже-

Относительное количество естественных клеток киллеров мало отличалось в сравниваемых группах. Процент нулевых лимфоцитов был высоким в основной группе.

Однонаправленность выявлена нами и в изменении уровня сывороточных иммуноглобулинов. Однако изменения более выраженными были в группе больных с ХГН, ассоциированным вирусами гепатита, получающих лечение методом гемодиализа.

Таким образом, при ХГН, ассоциированного вирусами гепатита В, гепатита В+С и дельта, получающих лечение методом гемодиализа, наблюдались нарушения в функционировании основных звеньев иммунитета в виде иммунодефицита общего пула Т-лимфоцитов, их основных субпопуляций, с одновременным нарастанием уровня нулевых лимфоцитов, что указывает на снижение общего числа зрелых лимфоцитов. Снижение уровня Т-лимфоцитов в периферической крови обусловлено, по-видимому, перераспределением иммунокомпетентных клеток в пораженные ткани, а также синтезом иммунодепрессивных факторов и в результате этого повышенным поступлением в кровотоки незрелых форм иммунных клеток. Выявленный дисбаланс регуляторных клеток между СД4 и СД8, в частности снижение СД8, является, очевидно, одним из основных факторов формирования иммунного патологического процесса и формиро-

вания вторичных иммунных реакций в различных органах. Это способствует оседанию вирусных антигенов и ЦИК в различных органах и системах с инициацией вторичного аутоиммунного процесса, в частности, в ткани почек. Высокое содержание ЦИК при снижении уровня фагоцитарной активности подтверждает возможность иммунокомплексного типа воспаления почек у данного контингента больных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ухудшение течения ХГН, ассоциированного вирусами гепатита, происходит в связи со снижением иммунологических реакций организма, что обусловлено персистенцией вирусных антигенов. У детей с ХГН на фоне вирусного гепатита, в сравнении с больными с ХГН без маркеров вирусов гепатита, отмечается однонаправленность в изменении показателей иммунитета. Однако в основной группе

больных дефицит Т-лимфоцитов, Т-супрессоров более выражен, что доказывает влияние маркеров вирусного гепатита на течение ГН.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Фитин АФ, Кляцкий ЮЮ, Морозов НВ. *Экологический диагноз. Экологические и гигиенические проблемы здоровья детей и подростков*. М., 1998; 301-310
2. Conte II, Faurie GI. Antigen Australia et glomerulonephritis. *Nour Press Med* 1995; 4 (6): 429-430
3. Takekeoshi V, Tanaka M, Shida N et al. The localization of in vivo bound complement in tissue sections. *J Exp Med* 2001; 115: 63-82
4. Duesberg U, Geulen O, Schmeiders AM et al. Transient loss of T-cell reactivity in a patient with hepatitis C virus reinfection. *Digestion* 2001; 64 (1): 66-70
5. Филимонова РГ. Роль вирусов гепатита В в этиологии гломерулонефрита. *Тер арх* 1996; (2): 137-140
6. Chenk KS, Lo SK, Lee N. Super infection with hepatitis B surface antigen: its prevalence and clinical significance in Taiwan. *Nephron* 1996; 73: 158-164

Поступила в редакцию 20.10.2005 г.