

УДК 616.36-002.2-022.6-053.2:612.017

АУТОИММУННАЯ РЕАКТИВНОСТЬ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ В И С

Н.И. Толкачева, И.В. Маянская, В.И. Ашкинази, С.В. Романова, Н.А. Каплина, М.М. Келекеева, ФГУ «Нижегородский НИИ детской гастроэнтерологии Росмедтехнологий»

Толкачева Надежда Ивановна – e-mail: immunol@mail.ru

Изучены уровни аутоантител (ANA, AMA, анти - LKM-1, анти - LC-1, анти - SLA/LP) у детей с хроническим вирусным гепатитом В и С с различной активностью процесса. У одной трети пациентов независимо от этиологии заболевания выявлена высокая иммунореактивность к собственным тканям печени. Раннее выявление аутомаркеров при хронических вирусных заболеваниях печени у детей необходимо для своевременной диагностики вирусассоциированных аутоиммунных реакций, что особенно важно для адекватного лечения.

Ключевые слова: дети, аутоантитела, хронический вирусный гепатит В и С.

The levels of autoantibodies (ANA, AMA, anti - LKM-1, anti - LC-1, anti - SLA/LP) were measured in children with chronic viral hepatitis B and C with varying activity of the process. It is shown that about 1/3 of patients with chronic hepatitis had a high autoimmune reactivity to hepatic tissues independently of the disease etiology. The early presentation of autoantibodies during the pediatric chronic virus hepatitis is necessary for the proper diagnostics of the virus-bound autoimmune reactions and is important for adequate therapy.

Key words: children, autoantibodies, chronic viral hepatitis B and C.

Введение

Хронические вирусные гепатиты В и С у детей, характеризующиеся широкой распространённостью, тяжестью течения с возможным развитием неблагоприятных исходов, продолжают оставаться одной из важных проблем современной педиатрии [1, 2].

Существенную роль в развитии хронического патологического процесса в печени играют циркулирующие в сыворотке крови аутоантитела (ААТ), продуцируемые в результате агрессии иммунной системы против собственных компонентов ткани печени. Как уже доказано, в основе аутоиммунного процесса лежат нарушения базовых механизмов иммунологической толерантности, что приводит к повышенному синтезу аутоантител к собственным антигенам и мимикрирующим эпитопам бактериального, вирусного и другого происхождения [3–7].

Среди аутоиммунных заболеваний печени выделяют аутоиммунный гепатит (АИГ), первичный билиарный цирроз печени (ПБЦ), первичный склерозирующий холангит (ПСХ). Необходимо разделять «истинные» аутоиммунные процессы и вирусассоциированные (вирусы гепатитов В и С) аутоиммунные проявления, различные эпитопы-мишени которых обуславливают различие в иммунном ответе, что в свою очередь ведет к принципиально различному подходу в терапии [8]. Нередко в клинической практике встречаются перекрестные (overlap) синдромы между АИГ и ПБЦ, АИГ и ПСХ, наблюдаются атипичные формы клинического течения вирусных гепатитов, представляющих диагностическую и терапевтическую проблему [9, 10, 11].

Точная диагностика аутоиммунных процессов при заболеваниях печени предусматривает обязательное выявление циркулирующих в крови аутоантител, таких как антинукле-

арные (ANA), антимитохондриальные (AMA), к цитоплазматическому антигену печени (анти-LC-1), к микросомам печени и почек 1-го типа (анти-LKM), к растворимому антигену печени и печеночно-панкреатическому антигену (анти-SLA/LP). На основании обнаружения в сыворотке аутоантител ANA, анти-LKM, анти-SLA/LP выделяют соответственно АИГ 1-, 2-, 3-го типов. Для ПБЦ специфическими являются AMA-M2, аутоантитела к антигенам внутренней мембраны митохондрий [12].

Основными методами лабораторной диагностики аутоиммунных процессов являются: непрямая иммунофлуоресценция (НИФ), иммуноферментный анализ (ИФА) и иммуноблот. Метод ИФА менее уязвим ввиду его доступности в исполнении и исключения субъективного фактора, связанного с визуальной оценкой результатов.

Необходимо отметить, что широко в медицинской практике исследование аутоиммунных процессов при инфекционных гепатитах не проводится [13]. В отечественной литературе встречаются в основном работы по изучению аутоиммунных проявлений у взрослых больных вирусными гепатитами В и С [13, 14, 15], у детей эта проблема практически не освещена. Имеются лишь единичные работы по исследованию аутоиммунных компонентов при АИГ у детей [16, 17].

Цель исследования

Определить наличие аутоиммунных компонентов в сыворотке крови у детей с хроническими вирусными гепатитами В и С.

Пациенты и методы

Первично обследовано 98 детей с хронической вирусной патологией печени в возрасте от 2 до 17 лет. Из них с хроническим вирусным гепатитом В (ХГВ) – 38 больных, с хроническим вирусным гепатитом С (ХГС) – 60 детей.

Постановка диагноза проводилась с учетом клинико-лабораторных и инструментальных методов исследования, использовалась международная классификация, принятая Всемирным конгрессом гастроэнтерологов в Лос-Анджелесе, 1994 г. [18], и рабочая классификация, разработанная в ФГУ «ННИИДГ Росмедтехнологии», с выделением степени активности патологического процесса в печени (0–IV). Вирусное инфицирование было подтверждено выявлением в сыворотке крови HbsAg, анти-HBs, HBeAg, анти-HBe IgG, анти-HBc суммарных, анти-HBc IgM, анти-HCV суммарных (ИФА), ДНК HBV и РНК HCV (ПЦР). Группу контроля составили 15 практически здоровых детей в возрасте от 5 до 15 лет. Определение аутоиммунных компонентов в сыворотке крови проводили методом ИФА: AMA – M2 субтипа (Orgentec, Германия), анти-LKM – 1 (IMMCO, США), анти-LC – 1 и анти-SLA/LP (AESCU, DIAGNOSTICS, Германия). Антинуклеарные антитела выявили с помощью 2 ИФА систем: ANA combi к 8 основным разновидностям ядерных антигенов – RNP-70, RNP/Sm, Sm, SS-A, SS-B, Scl-70, centromer B, Jo-1; и ANA screen (Orgentec, Германия).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программ Statistica 6.0 for Windows XP, Excel for Windows XP. Рассчитывали среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего (m). Данные в тексте и таблице представляли в виде $M \pm m$. Для сравнения показателей между группами использовали критерии Стьюдента, проводили корреляцию по Пирсону (r). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

ТАБЛИЦА.

Содержание ААТ в сыворотке крови у детей с хроническими вирусными гепатитами В и С ($M \pm m$)

Группы детей	AMA-M2 МЕ/мл	анти - LC-1 МЕ/мл	анти - LKM-1 ФЕ/мл	анти - SLA/LP МЕ/мл	ANA Коэффициент позитивности
ХГ С n=60	6,71± 1,08*	4,23± 0,64*	8,14± 0,53	0,82± 0,06*	0,54± 0,07*
ХГ В n=38	6,75± 1,21*	6,02± 1,01*	8,93± 0,61	1,31± 0,28*	0,49± 0,09*
Здоровые n=15	2,61± 0,52	1,69± 0,15	10,01± 0,43	0,37± 0,05	0,30± 0,019

Примечание: * - достоверность различий относительно здоровых детей ($p < 0,05-0,001$).

Результаты и обсуждение

В крови условно здоровых детей в пределах нашей выборки не выявлено зависимости концентрации ААТ от возраста. Установлен диапазон нормальных значений аутоантител: AMA-M2 – $2,62 \pm 0,53$ МЕ/мл, анти-LC – $1,69 \pm 0,16$ МЕ/мл, анти-LKM-1 – $10,01 \pm 0,43$ ФЕ/мл, анти-SLA/LP – $0,37 \pm 0,06$ МЕ/мл, ANA-screen коэффициент позитивности – $0,30 \pm 0,02$. На основании анализа полученных данных предлагаются следующие ориентиры нормативных границ, соответствующие значениям $M + 3\sigma$: AMA-M2 < 8 МЕ/мл, анти-LC < 5 МЕ/мл, анти-LKM-1 < 13 ФЕ/мл, анти-SLA/LP < 2 МЕ/мл, ANA-screen коэффициент позитивности < 0,5.

Выявление аутоантител выше установленных нормативных границ является диагностически значимым критерием наличия аутоиммунного процесса.

В результате первичного обследования общей группы больных обнаружено наличие исследуемых ААТ, превышающих ориентиры нормативных границ: AMA-M2 у 17 ($17,3 \pm 3,8\%$) пациентов, анти-LKM – у 12 ($12,2 \pm 3,3\%$), анти-LC-1 – у 27 ($27,5 \pm 4,5\%$), анти-SLA/LP – у 6 ($6,8 \pm 2,6\%$). У остальных детей содержание аутоантител было в пределах «нормальных значений». В отношении антинуклеарных антител при использовании тест-систем ANA combi из 54 обследованных детей у 7 ($12,9\%$) пациентов выявлены положительные значения к одному или двум АГ и у 13 ($24,07\%$) пациентов установлены пограничные значения. Известно, что при подозрении на аутоиммунные нарушения первым диагностическим тестом является скрининговый анализ на антинуклеарные антитела. Поэтому в дальнейшем мы использовали тест-систему ANA screen. Этот метод детектирует суммарные антинуклеарные антитела к следующим антигенам: SS-A/Ro, SS-B/La, RNP70, Sm, RNP/Sm, центромер В и Jo-1. В результате определения антинуклеарных антител частота встречаемости суммарных ANA, превышающих нормативные значения, составила $37,1 \pm 8,1\%$.

Не установлено достоверных различий показателей AMA-M2, анти-LC-1, анти-SLA/LP, ANA у больных с хроническими заболеваниями печени в зависимости от активности патологического процесса. Различия установлены лишь по содержанию анти-LKM и частоте встречаемости их диагностически значимых величин: чем выше активность заболевания, тем выше и чаще определяются анти-LKM-1 (при неактивном процессе – $7,45 \pm 0,44$ ФЕ/мл, $4,1 \pm 2,8\%$ и при активном процессе – $9,23 \pm 0,61$ ФЕ/мл, $18,3 \pm 5,5\%$ соответственно; $r = 0,23$, $p < 0,05$).

Кроме того, у 1 из 6 больных ХГС с высокой степенью активности заболевания (III) обнаружено и самое высокое содержание анти-LC-1 ($159,2$ МЕ/мл - в 15 раз выше нормы). Известно, что антитела к микросомам печени и почек 1-го типа направлены против цитохроммоноксигеназы р450IIDб. Данный пептид экспрессирован на поверхности гепатоцитов и является основным эпитопом, к которому сенсибилизированы Т-хелперы I типа, участвующие в повреждении гепатоцитов [19].

Сравнительный анализ урвной изучаемых аутоантител в сыворотке крови у детей с хронической вирусной патологией печени в зависимости от инфекционного агента показал, что содержание AMA-M2, анти-LC-1, анти-SLA/LP, ANA screen в обеих группах детей (ХГВ и ХГС) в среднем превышало таковое у здоровых детей (таблица).

Частота встречаемости диагностически значимых показателей аутоантител при хроническом гепатите В и С соответственно составила: AMA-M2 – $15,79 \pm 5,9\%$ и $18,33 \pm 4,9\%$; анти-LC-1 – $34,2 \pm 7,6\%$ и $23,3 \pm 5,4\%$, анти-LKM-1 – $15,8 \pm 5,9\%$ и $10,0 \pm 3,8\%$; анти-SLA/LP – $13,8 \pm 5,7\%$ и $1,9 \pm 1,8\%$; ANA screen – $33,3 \pm 12,1\%$ и $40,0 \pm 10,9\%$.

Достоверных различий между показателями выявленных аутоантител при изучаемых заболеваниях не обнаружено.

Выводы

1. Установлены ориентиры нормативных границ концентраций аутоантител в сыворотке крови у практически здоровых детей: AMA-M2 < 8 МЕ/мл, анти-LC < 5 МЕ/мл, анти-LKM-1 < 13 ФЕ/мл, анти-SLA/LP < 2 МЕ/мл, ANA-screen коэффициент позитивности < 0,5.

2. При хронической вирусной патологии печени независимо от этиологии заболевания у одной трети пациентов выявлена высокая иммунореактивность к собственным тканям печени.

3. Установлена прямая корреляционная связь ($r=0,23$, $p<0,05$) концентрации аутоантител к микросомам печени и почек (анти-LKM-1) с активностью патологического процесса в печени.

4. Раннее выявление аутомаркеров при хронических вирусных заболеваниях печени у детей необходимо для своевременной диагностики вирусассоциированных аутоиммунных реакций, что особенно важно для адекватного лечения.



ЛИТЕРАТУРА

1. Рейзис А.Р. Лечение хронического гепатита С у детей и подростков. Медицинский вестник. 2006. № 16. С. 11–12.
2. Liberek A. et al. Chronic hepatitis B in children – is it still a real problem. Med Wieku Rozwoj. 2007. Vol. 11. P. 359–366.
3. Ройт А., Бростофф Д., Мейл Д. Иммунология. М.: Мир, 2000. С. 169–175.
4. Хаитов Р.М., Игнатъев Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. М.: Медицина, 2000.

5. Буеверов А.О. Патогенез аутоиммунных заболеваний печени. Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктологии. 2001. № 4. С. 59–61.
6. Сучков С.В., Шогенов З.С., Хитров А.Н. и др. Постинфекционный аутоиммунный синдром: особенности патогенеза и современные протоколы клинической иммуногенодиагностики. Тер. Архив. 2007. № 4. С. 71–76.
7. Царегородцева Т.М., Серова Т.И., Винницкая Е.В. и др. Аутоиммунные реакции при болезнях органов пищеварения. Тер. архив. 2009. № 2. С. 68–71.
8. Маннс М. Диагностика и лечение аутоиммунных заболеваний печени. Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктологии. 2001. № 4. С. 49–51.
9. Лесняк О.М. Аутоиммунные и ревматические аспекты инфицированности вирусом гепатита С. Клиническая медицина. 1999. № 12. С. 14–18.
10. Czaja A.J. The variant forms of autoimmune hepatitis. Ann Intern Med. 1996. № 125. P. 588–598.
11. Ивашкин В.Т., Широкова Е.Н., Маевская М.В. и др. Клиника и лечение аутоиммунного перекреста – аутоиммунного гепатита и первичного билиарного цирроза. Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктологии. 2005. № 5. С. 35–40.
12. Ивашкин В.Т., Буеверов А.О. Аутоиммунные заболевания печени в практике клинициста. М.: М-Вести, 2001. 102 с.
13. Немов В.В., Попкова М.И., Никитина Э.Н. и др. Аутоиммунные нарушения и методы их оценки при гепатитах различной этиологии. Медицинский альманах. 2009. № 2. С. 139–141.
14. Волчкова Е.В., Алленов М.Н., Умбетова К.Т. и др. Аутоиммунные проявления при острых вирусных гепатитах. Тер. архив. 2003. № 11. С. 11–14.
15. Алленов М.Н., Волчкова Е.В., Умбетова К.Т. и др. Уровень цитокинов воспаления и характер аутоиммунных нарушений у больных гепатитом С. Эпидемиолог. и инфекцион. болезни. 2006. № 5. С. 45–49.
16. Тюрина Е.Н., Сичинава И.В., Ратникова М.А. и др. Критерии диагностики аутоиммунного гепатита у детей. Росс. педиатрический журнал. 1999. № 5. С. 44–49.
17. Гундобина О.С. Диагностика и течение аутоиммунного гепатита у детей. Росс. педиатрический журнал. 2001. № 6. С. 36–37.
18. Малаховский Ю.Е., Смирнова Н. П., Бекузаров С.С., Городилов Ю.А. Первый опыт работы с новой классификацией хронического гепатита у детей. Педиатрия. 2000. № 3. С. 54–58.
19. Obermayer-Strauss P., Strassburg C.P., Manns M.P. Autoimmune hepatitis. J. Hepatol. 2000. Vol. 32 (suppl. 1). P. 181–197.