

ROLUL IMUNITĂȚII CELULARE ȘI AL
CITOKINELOR PROINFLAMATORII ÎN
IMUNOPATOGENEZA HEPATITELOR VIRALE B
CRONICE LA COPII

Tatiana RABA,
IP USMF Nicolae Testemițanu, Departamentul Pediatrie

Summary

The role of cellular immunity and proinflammatory cytokines in the immunopathogenesis of chronic viral hepatitis B in children

Immunopathogenesis mechanisms of chronic hepatitis B are different fundamentally from those in other viral hepatitis and principled particularities have some properties that are dependent on HBV, the age at which infection occurred and child immunity status. Currently in the world were studied possible ways of becoming infected with HBV, the mechanisms of interaction of the virus with infected host cells, structural and nonstructural viral proteins role in trigger-

ing the immune response and the cells involved in chronic hepatitis B immunopathogenesis. However necessary vision reviewing interaction of immunocompetent cells and their role in persistent HBV infection induced in children and formed a personalized approach based on evidence.

Keywords: chronic hepatitis B, immunopathogenesis, immune response

Резюме

Роль клеточного иммунитета и провоспалительных цитокинов в иммунопатогенезе хронического вирусного гепатита В у детей

Имунопатогенетические механизмы формирования хронического гепатита В отличаются принципиально от острого вирусного гепатита и имеют некоторые свойства, которые зависят от HBV, возраста в котором произошло заражение и иммунного статуса ребенка. В настоящее время были изучены возможные пути заражения вирусным гепатитом В, механизмы взаимодействия вируса с инфицированными клетками хозяина, роль структуральных и неструктуральных вирусных белков в запуске иммунного ответа, роль провоспалительных цитокинов участвующих в формировании хронического процесса. Однако сегодня необходимо пересмотреть взаимодействия иммунокомпетентных клеток и их роль в формировании хронического течения инфекции вызванной ВГВ у детей и иметь индивидуальный подход, основанный на доказательных данных.

Ключевые слова: хронический вирусный гепатит В, иммунопатогенез, иммунный статус

Introducere

În ciuda progreselor semnificative înregistrate în vaccinarea anti-HVB și terapiei antivirale recomandate de protocoalele internaționale pentru copii, hepatita virală B cronică continuă să rămână una dintre problemele grave în medicină. În plan global, astăzi 350-400 de milioane (6%) din populația lumii este infectată cronic cu virusul hepatitei B (VHB). Prevalența infecției cu VHB printre adulți în diferite țări variază de la 0,1% până la 20% [1, 2, 13, 14, 15], iar aproximativ 1 milion de oameni decedează anual din cauza complicațiilor asociate HVB [14, 15]. 10%-30% dintre pacienții cu hepatită virală B cronică au un risc crescut de progresare a procesului inflamator infecțios și a fibrozei hepatice, evoluând spre ciroza hepatică [4, 5, 11]. Fiecare al patrulea pacient adult cu ciroză hepatică virală B, timp de 5-7 ani poate dezvolta decompensarea funcțiilor hepatice, iar în jur de 10% – malignizarea. Ponderea acestor complicații severe și mecanismele imunopatogenetice ale hepatitei virale B cronice la copii rămân puțin cunoscute [3, 9, 12, 13, 19].

Scopul studiului dat a fost determinarea rolului T limfocitelor (CD3) și a subpopulațiilor lor (CD4+, CD8+), al B limfocitelor și a semnificației interleukinelor proinflamatoare IL1 β , INF γ , TNF α în imunopatogeneza hepatitelor virale B cronice la copii.

Material și metode

Au fost incluși în studiu 55 de copii în vârstă de 3-17 ani cu hepatită virală B cronică, spitalizați în secția de hepatologie a Spitalului Clinic Em. Coțaga, în Institutul Mamei și Copilului, la care a fost examinată imunitatea celulară (CD3, CD4+, CD8+, limfocitele B) prin metoda imunoenzimatică monoclonală (imunolog – d.ș.m. E. Somatii, Centrul medical MedExpert) și nivelul seric al IL1 β , INF γ , TNF α la 6 copii cu ADN VHB pozitiv efectuate în Centrul Controlul bolilor virale a Centrului Național de Sănătate Publică prin metoda ELISA (vicedirector, prof. univ., d.h.ș.m., Laureat al Premiului Național, Om Emerit C. Spânu).

Diagnosticul hepatitei virale B cronice a fost confirmat în baza datelor epidemiologice, clinice, biochimice, imunologice. Nivelul viremiei ADN VHB a fost cercetat prin metoda PCR Real Time (ROTOR Gene6000 CORBETT RESEARCH, Centrul Republican de Diagnostică Medicală, director – d.ș.m. A. Testemițanu). Activitatea morfohistologică a hepatitei virale B cronice în țesutul hepatic prelevat prin biopsie cu acul Menghini (5 copii) a fost apreciată în Laboratorul morfohistologic al Institutului Mamei și Copilului (medic morfopatolog – d.ș.m. V. Petrovici).

Ancheta epidemiologică a inclus date despre antecedenta maladiei date, prezența AgHBs presarcină la mama copilului inclus în studiu, suportarea de către copil a multiplelor manopere parenterale sau a transfuziilor de sânge, a hepatitei virale B acute în antecedentă, prezența AgHBs sau a hepatitei virale B cronice la membrii familiei, precum și alte date ce țin de posibila cale de infectare cu VHB. Rezultatele obținute au fost analizate statistic cu utilizarea testului Student, determinarea valorilor medii și a erorii-standard a mediei. Cazurile cu $p \leq 0,05$ au fost considerate statistic semnificative.

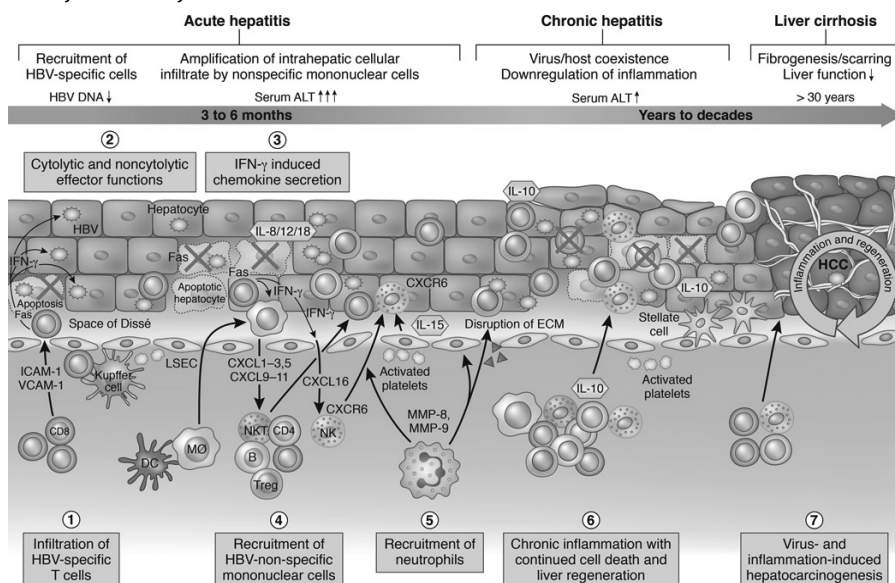
Rezultate obținute și discuții

Studiul efectuat la 55 de copii cu HVBC a demonstrat că în 82% de cazuri vârsta copiilor a fost între 6 și 15 ani, media fiind de 12,8 ani, cu predominare a sexului masculin. Conform anchetei epidemiologice, infectarea copiilor cu VHB în 43,8% cazuri s-a produs cel mai probabil pe cale orizontală (habitual), deoarece AgHBs a fost constatat pozitiv la unul dintre membrii familiei, inclusiv la mamă. Durata medie de cronicizare a infecției cu VHB la copii a fost de $2,7 \pm 0,47$ ani. La 69,5% din pacienții incluși în studiu a fost confirmată faza de viremie cu AgHBe pozitiv și ADN VHB mai mare de 2000 UI/ml. În 52,7% (29) din cazuri a fost constatată starea de imunosupresie, exprimată prin diminuarea limfocitelor T totale (CD3), limfocitelor T helper (CD4+), limfocitelor T citotoxice (CD8+) și a limfocitelor B ($P < 0,01$). Valorile serice ale

interleukinelor proinflamatorii au fost mici la majoritatea celor examinați: TNF α – la 5, IFN γ – la 4, IL1 β – la 4 copii.

Mecanismele imunopatogenetice ale hepatitei virale B cronice au unele particularități ce le deosebesc principal de cele prezente în hepatita virală B acută [1-8,10,16]. VHB pătrunde în organismul copilului, de regulă, prin căi parenterale, dar acesta poate fi inoculat și antenatal (intrauterin) sau vertical, aceasta fiind una dintre particularitățile etiopatogenetice ale infecției cu VHB la copii. Transmiterea VHB vertical de la mama infectată și viremică la făt poate fi realizată prin trei modalități: *ante partum*, prin pasajul transplacentar al virusului; *intra partum*, deoarece în timpul travaliului contracțiile uterine produc microtransfuzii de aproximativ 3 ml de sânge de la mamă la făt, și în timpul expulziei, prin contactul tegumentelor și mucoasei conjunctivale a nou-născutului cu sângele și secrețiile materne infectate; *post partum*, prin alăptarea la sân [1, 2, 3, 9, 13, 18].

Reprezentarea schematică simplificată a factorilor-cheie implicați în patogenia infecției acute și celei cronice cu VHB [12]



O altă particularitate patogenetică a infecției este că VHB nu e citopatic și nu are proprietatea de a afecta direct hepatocitele, iar leziunile hepatice se produc prin mecanism imunologic [2, 10, 11]. Citoliza hepatocitelor este determinată de limfocitele T citotoxice (CD8+) din momentul recunoașterii antigenelor VHB, localizate în interiorul hepatocitelor (vezi figura). În cazul unui răspuns imun insuficient al organismului copilului, distrugerea hepatocitelor infectate se realizează mai puțin activ și nu are loc eliminarea totală a VHB, iar procesul infecțios progresează lent spre cronicizare, cu persistența virusului [11, 12, 16].

Dat fiind faptul că sistemul imun al copilului, până la vârsta de 6-10 ani, este imperfect, în organismul infectat are loc un spectru larg de reacții imune și manifestări clinice determinate de persistența VHB – de la starea de purtător asimptomatic, hepatită acută autolimitată sau fulminantă până la hepatită cronică, cu o evoluție progresivă în timp spre ciroză hepatică sau carcinom hepatocelular [1, 2, 11, 12].

Răspunsul imun anti-HBV reprezintă un proces complicat de interacțiuni dintre diferite tipuri de celule imunocompetente, fiecare având un rol bine determinat. Limfocitele T helper (CD4+) sunt celule puternice care induc sinteza citokinelor (vezi figura), fiind necesare pentru formarea subpopulației de limfocite T efectoare (CD8+) și stimularea sintezei anticorpilor de către limfocitele B. Celulele T efectoare (CD8+) elimină VHB prin

mecanism citopatic sau necitopatic, inducând diminuarea replicării virale. Concomitent, limfocitele B sintetizează anticorpi ce neutralizează virionii circulanți, astfel prevenind reinfectarea [1, 2, 12, 13]. Răspunsul imun al gazdei include recunoașterea și eliminarea VHB, pe de o parte, și producerea reacțiilor imunopatologice care au drept scop eliminarea virusului și a hepatocitelor infectate, pe de altă parte [1, 2, 12, 13]. Aceste interacțiuni virus – gazdă includ o variație relevantă de expresii clinice ale maladei și explică rolul VHB în inducerea lezării celulelor hepatice și apariția apoptozei, precum și impactul răspunsului imun la terapia antivirală. Eliminarea eficientă a VHB se bazează pe determinanții antigenici virali (AgHBs, preS1, pre-S2, AgHBcor, apariția mutațiilor genice ale VHB și lipsa sintezei AgHBe) și defectele sistemului imun ale gazdei, precum producerea de interferoni proprii, funcționalitatea sistemului celular limfocitar T și B [1, 2, 4, 7]. Activarea mecanismelor imune umorale și celulare apar înaintea leziunilor hepatocelulare induse de VHB [1, 2, 3, 6, 7, 11, 12]. Principalele celule efectoare în declanșarea mecanismelor imune în infecția cu VHB sunt limfocitele T efectoare (CD8+), iar cantitatea insuficientă a acestora întârzie eliminarea VHB, fapt demonstrat experimental pe cimpanzei [4]. Este important de menționat că procesele necroinflamatorii în hepatita virală B cronică sunt dominate de reacțiile imune produse în ficat și nu de cele virus-specifice [1, 2, 12, 13, 16, 19].

Activarea sistemului de citokine proinflamatoare (IFN γ , TNF α , IL2) și creșterea

intrahepatică a subpopulațiilor limfocitelor T și B sunt dependente de nivelul replicării VHB [1, 12]. Se presupune că inițial, după infectare, VHB afectează o cantitate mică de hepatocite, ceea ce limitează progresarea infecției. Totodată, se presupune că VHB nu agunge direct în ficat, ci în măduva osoasă sau în alte organe, fapt ce corespunde perioadei de 4-7 săptămâni de aviremie de la momentul infectării. Însă această ipoteză necesită studii mai profunde și argumentare științifică [1, 10, 12, 18].

Concomitent cu cele relatate, a fost demonstrat că în procesul de interacțiune a VHB cu sistemul imun al organismului lipsește producția de INF α și INF β . Aceste citokine au proprietate activă antivirală față de VHB, însă în procesul evolutiv natural de replicare a VHB nu are loc activarea și sinteza lor. Se poate presupune că VHB include mecanismele proprii de apărare pentru a evita identificarea sa de către celulele imunocompetente ale gazdei [1, 12]. La asemenea pacienți, ALT și ASAT sunt în limita normei, lipsește activitatea histologică, iar replicarea virală VHB este foarte înaltă [1, 2, 3, 8, 12].

Cercetările experimentale efectuate pe cimpanzei au demonstrat că, în cazul unei imunități competente a gazdei, după apariția replicării VHB se dezvoltă faza acută a hepatitei virale, cu manifestări clinice tipice, producerea masivă a INF γ , TNF α și expresia limfocitelor T helper (CD4+). În hepatita virală B acută, limfocitele T specifice și NK (killer natural), prin mecanisme indirecte de mediere a INF γ și TNF α pot întrerupe expresia proteinelor virale și replicarea VHB fără distrugerea hepatocitelor infectate [1, 11]. Spre deosebire de infecția acută, în infecția cronică cu VHB are loc o sinteză insuficientă de celule NK, INF γ , TNF α și imunitatea specifică nu poate fi formată, fapt confirmat și în studiul nostru.

Concluzii

În studiile efectuate de noi a fost demonstrat dezechilibrul sistemului T-limfocitar cu imunosupresia semnificativă a limfocitelor T totale (CD3), helper (CD4+), citotoxice (CD8+) și a limfocitelor B în 52,7% (29) de cazuri ($P < 0,01$). Valorile diminuate ale citokinelor proinflamatorii IFN- γ , TNF- α , IL-1 β obținute în studiul nostru la copiii cu HVBC explică prezența unui deficit de sinteză a acestora, cu instalarea imunodeficienței secundare ($P < 0,01$) și incapacitatea de a elimina AgHBe, astfel fiind favorizată cronicizarea.

Reacțiile imune nespecifice cu activarea limfocitelor T helper (CD4+), citotoxice (CD8+), limfocitelor B și a citokinelor proinflamatorii au rolul principal, în imunopatogeneza hepatitelor virale B cronice de a recunoaște hepatocitele infectate cu VHB și de a le distruge, producând leziuni.

Bibliografie

- Balmasova I., Yushchuk N., Mynbaev O. et al. *Immunopathogenesis of chronic hepatitis B*. In: World J. Gastroenterol., 2014; nr. 20(39), p. 14156-14171.
- Baumert T., Thimme R., Weizsäcker F. *Pathogenesis of hepatitis B virus infection*. In: World J. Gastroenterol., 2007, China, nr. 13(1), p. 82-90.
- Bennett N.J. *Pediatric Hepatitis B*. Connecticut Children's Medical Center. American Academy of Pediatrics. Apr., 2014. www.medscape.com.
- Hsiang-Po H., Hong-Yuan H., Chi-Ling C. et al. *Pre-S2 Deletions of Hepatitis B Virus and Hepatocellular Carcinoma in Children*. In: J. Ped. Res., nr. 67, 2010, p. 90-94.
- Liu H.F., Sokal E., Goubau P. *Wide variety of genotypes and geographic origins of hepatitis B virus in Belgian children*. In: J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 2001; nr. 32, p. 274-277.
- Mauss S., Berg T., Rockstroh J. et al. *Hepatology 2014*. 5th Edition. Gilead Sciences Europe, 2014, p. 35-176.
- Mauss S., Berg T., Rockstroh J. et al. *Hepatology 2015*. 6th Edition. Gilead Sciences Europe Flying Publisher, p. 655.
- Ni Y.-H., Chang M.-H., Wang K.-J., Hsu H.-Y. et al. *Clinical relevance of hepatitis B virus genotype in children with chronic infection and hepatocellular carcinoma*. In: Gastroenterology, 2004, v. 127, p. 1733-1738.
- Ott J.J., Stevens G.A., Groeger J., Wiersma S.T. *Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity*. In: Vaccine, 2012, v. 0(12), p. 2212-2219.
- Paganelli M., Stephenne X., Sokal E.M. *Chronic hepatitis B in children and adolescents*. In: J. Hepatol., 2012, v. 57, p. 885-896.
- Pântea V. *Hepatitele virale acute și cronice (etiologie, epidemiologie, patogenie, tablou clinic, diagnostic și profilaxie)*. Chișinău, 2014, p. 259.
- Rehermann B. *Pathogenesis of chronic viral hepatitis: differential roles of T cells and NK cells*. In: J. Nat. Med., 2013, v. 19(7), p. 859-868.
- Sokal E., Paganelli M., Wirth S. et al. *Management of chronic hepatitis B in childhood: ESPGHAN Clinical Practice Guidelines*. Consensus of an expert panel on behalf of the European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (EASL). In: Journal of Hepatology, 2013, v. 59, p. 814-829.
- World Health Organization. *Hepatitis B Fact sheet*. July, 2012. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>.
- WHO position paper on Hepatitis B vaccines. October, 2009. WHO. Summary of Key Points, № 1.
- Жданов К., Лобзин Ю., Гусев Д. и др. *Вирусные гепатиты*. Санкт-Петербург, 2012, с. 26-66.
- Ивашкин В.Т. *Диагностика и лечение гепатита В у взрослых: консенсус экспертов*. В: Инфекционные болезни, № 4, 2013.
- Ключарева А.А. *Диагностика и дифференциальная диагностика заболеваний печени у детей*. Пособие для практических врачей. Минск, 2001, с. 67
- Крамарев С.А. *Универсальная массовая вакцинация детей раннего возраста – стратегия выбора в профилактике гепатита В*. В: Здоровье ребенка, Киев, 2010, № 4 (25). <http://www.mif-ua.com>.

Tatiana Raba, d.ș.m., conf. univ.,
 Departamentul *Pediatrie*,
 IP USMF *Nicolae Testemițanu*
 Tel.: 079305818
 E-mail: tatiana.raba@usmf.md