

І.Р. Мавлянов, Б.В. Шукуров

ІНДУКЦІЯ АПОПТОЗУ ЛІМФОЦИТІВ ПРИ ГОСТРОМУ ГЕПАТИТІ В ДІТЕЙ – ЧИ Є МАРКЕРОМ ЦИТОЛІЗУ ГЕПАТОЦИТІВ?

Ташкентська медична академія (Узбекистан)

У дітей з гострим гепатитом В (ГГВ) вивчено експресію активаційних рецепторів CD25, CD95, CD38 і показники цитолізу: рівень АлАТ і АсАТ у сироватці крові. Показано, що ГГВ у дітей супроводжується підвищенням експресії рецепторів CD25, CD95 і CD38, що вказує на прискорення апоптозу лімфоцитів крові. У сироватці крові хворих дітей спостерігається підвищення рівня АлАТ і АсАТ. Зроблено висновок, що наявність прямої залежності між індукцією апоптозу лімфоцитів крові і ферментемією не дозволяє однозначно судити про прямий зв'язок між апоптозом лімфоцитів і апоптоз-опосередкованим цитолізом гепатоцитів.

Ключові слова: апоптоз, цитоліз, гепатит В.

Відомо, що в основі цитолітичного синдрому при вірусних гепатитах пріоритетна роль належить апоптоз-опосередкованій загибелі гепатоцитів [1, 2]. Дослідженнями останніх років встановлено, що запрограмована загибель клітин є складним, багатоступінчастим процесом, здійснюваним ліганд-рецепторними взаємовідношеннями. В реалізації апоптозу гепатоцитів істотне значення мають цитотоксичні Т-лімфоцити (ЦТЛ), НК-клітини (натуральні кілери), а також ряд прозапальних цитокінів (ФНП- α , ІЛ-2, інтерферон- γ та ін.), що виробляються моноклеарними і поліморфноядерними клітинами крові [3, 4]. Разом з тим, у доступній літературі немає достатніх відомостей про роль апоптозу цих клітин при вірусних гепатитах різної етіології.

У зв'язку з цим метою роботи було вивчити апоптоз лімфоцитів крові при ГГВ у дітей в порівняльному аспекті з показниками цитолізу гепатоцитів.

Матеріали і методи

Під спостереженням було 39 хворих дітей з клінічним діагнозом ГГВ, які перебували на стаціонарному лікуванні в інфекційній клініці Ташкентської медичної ака-

демії. Маркери гепатиту В визначали методом ІФА. Цитолітичний синдром оцінювали визначенням рівня ферментів АлАТ і АсАТ у сироватці крові з використанням стандартного набору *BIO-LA-TEST (PLIVA-Lachema)*. На підставі значень ферментів АлАТ і АсАТ прораховували коефіцієнт де Рітца [5]. Дослідження імунного статусу проводили в лабораторії імунно- і алергодіагностики Інституту імунології АН РУз (зав. лаб. к.б.н. Залялієва М.В.). Відносний зміст субпопуляцій лімфоцитів і маркерів активації CD25, CD38, CD95 визначали за допомогою моноклональних антитіл, виробництва Мед Біо Спектр МЗ РФ (Москва). Контрольну групу склали 10 «умовно здорових» дітей. Статистична обробка одержаних результатів проводилась методом варіаційної статистики, обчисленням середньої арифметичної (М), середнього квадратичного відхилення, критерію Стьюдента (t). Результати вважалися достовірними при $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

У дітей, хворих на ГГВ, в розпал хвороби спостерігається підвищення експресії активаційних маркерів CD25, CD95 і CD38 (табл. 1). Так, при цьому відносна кількість CD25-клітин перевищувала контрольні значення в середньому в 1,2 разу. Вивчення CD38-клітин виявило достовірне їх збільшення порівняно з групою контролю в середньому в 2 рази ($P < 0,05$). Відомо, що одним з шляхів реалізації апоптозу клітин є стимуляція Fas-R рецептора, якій знаходиться на поверхні клітин-мішеней, за допомогою Fas-L ліганду [6, 7]. Маркером FasR/FasL зумовленого запуску апоптозу клітин є експресія рецептора CD95.

Як видно з одержаних результатів, у дітей з ГГВ відзначено достовірне підвищення відносного вмісту лімфоцитів, несучих рецептор для FAS-залежного апоптозу – CD95, яке у стадії розпалу перевищує значення контролю в 1,7 разу ($P < 0,05$). Отже, можна припустити, що при ГГВ у дітей має

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 1
Показники імунної системи і цитолізу при ГГВ у дітей

Показник	Контрольна група	Дослідна група
CD95, %	14,2±3,4	25,3±4,2*
CD25, %	19,4±4,2	25,1±3,4
CD38, %	15,1±3,1	31,5±4,1*
АлАТ, мМ/л×год	0,1-0,68	4,0-6,8 (5,4)*
АсАТ, мМ/л×год	0,1-0,45	1,2-3,35 (2,25)*
Коефіцієнт де Рітіса	1,5	0,3-0,5 (0,4)

Примітка. * – $P < 0,05$ порівняно з контролем.

місце індукція апоптозу лімфоцитів, яка підтверджується також підвищеною експресією рецептора CD25. Відомо, що CD25 є рецептором до α -ланцюга інтерлейкіну-2 (ІЛ-2), що відображає ступінь вироблення цього цитокіну [1, 2, 8]. У той же час встановлено, що ІЛ-2 є не тільки прозапальним цитокіном, але і служить сигналом для запуску апоптозу клітин. Дійсно, вивчення зв'язку між рецепторами CD95 і CD25 показало наявність прямої позитивної кореляції. Отже, знайдена нами пряма залежність між вказаними показниками імунної системи ще раз підтверджує факт процесів запрограмованої загибелі клітин крові.

Проте аналіз результатів імунної системи показує, що не у всіх хворих дітей з ГГВ має місце індукція апоптотичних рецепторів CD95, CD25 і CD38. При цьому низькі значення експресії рецепторів CD25, CD95 і CD38 відзначалися відповідно у 44, 28 і 16 % обстежених хворих. У той же час аналіз цитолітичного синдрому свідчив про наявність високої ферментемії. Показники АлАТ в середньому перевищували нормальні значення в 7,5 разу, АсАТ – у 5 разів, а коефіцієнт де Рітіса знижувався в 3,5 разу ($P < 0,05$). Виходить, що реакція клітин імунної системи, у тому числі їх запрограмованої загибелі, при ГГВ має неодноспрямований характер, хоча в середньому в групі обстежених спостерігається підвищення експресії активаційних рецепторів, що нехарактерне для показників ферментемії, де спостерігається односпрямованість у бік їх підвищення. На наш погляд, підвищення рівня ферментів у крові переважно за рахунок АлАТ призводить до дестабілізації клітинного бар'єру, порушення проникності клітинної мембрани гепатоцитів і зниження коефіцієнта де Рітіса. Разом з тим, підвищення рівня ферментів, зокрема АсАТ, не виключає процес цитолізу гепатоцитів і шляхом некрозу.

Наявність прямої кореляції між показниками апоптозу лімфоцитів і ферментемією вказує на участь запрограмованої загибелі лімфоцитів у цитолізі гепатоцитів. Проте це припущення суперечить механізму Fas-R/Fas-L-залежного апоптозу гепатоцитів. Виходячи з даних літератури, логічно було б припустити, що в умовах індукції апоптозу в лімфоцитах, у тому числі ЦТЛ, НК-клітинах, запрограмована загибель гепатоцитів повинна була б знижуватися. Однак висока ферментемія підтверджує зворотне. З цього випливає, що ферментемія може виявитися результатом не тільки апоптозу, але й некрозу гепатоцитів, оскільки відомо, що в гепатоцитах існує певна рівновага між їх апоптотичною і некротичною загибеллю [4]. Але це припущення є не єдиним поясненням одержаних нами результатів і не виключає пріоритетну роль апоптозу гепатоцитів. Відомо, що запуск апоптозу гепатоцитів при ГГВ може здійснюватися не лише через Fas-R рецептори, але і через інші рецептори апоптозу (TNF1, TNF2 та ін.), стимулом для яких можуть служити прозапальні цитокіни, рівень яких зростає у вогнищі запалення. На користь цього припущення говорить збільшення активаційного рецептора CD25. Необхідно відзначити і те, що вивчення апоптозу лімфоцитів проводилось в їх загальній популяції, з яких не всі лімфоцити беруть участь у запуску апоптозу.

Таким чином, проведені дослідження не дозволяють з точністю вказувати на пряму причетність апоптозу лімфоцитів крові до процесу запрограмованої загибелі гепатоцитів. Це вимагає вивчення апоптозу в окремих субпопуляціях лімфоцитів і/або безпосередньо в печінкових клітинах. Разом з тим, з'ясування цього питання мало б істотний внесок в розробку стратегії і тактики лікування гепатиту В з урахуванням апоптотичної загибелі клітин-мішеней.

Висновки

1. У дітей з ГГВ відзначається прискорення експресії рецептора CD95, яке прямо корелює з експресією рецептора CD25.
2. При ГГВ у дітей простежується пряма залежність між підвищенням експресії рецепторів CD95, CD25 і CD38 і показниками цитолізу (АлАТ і АсАТ).
3. Наявність прямої залежності між індукцією апоптозу лімфоцитів і ферментемією недостатньо відображає цитоліз гепатоцитів.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Література

1. Аруин Л.И. Апоптоз и патология печени // Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 1998. – № 2. – С. 6-10.
2. Потапнев М.П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами // Иммунология. – 2002. – № 4. – С. 237-243.
3. Буеверов А.О., Дмитриева Е.В., Москалева Е.Ю. Апоптоз лимфоцитов и гранулоцитов периферической крови при хронических HBV и HCV инфекциях // Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2000. – № 6. – С. 33-36.
4. Буеверов А.О., Тихонина Е.В., Москалева Е.Ю. и др. Апоптоз периферических лейкоцитов при хронических вирусных гепатитах // Там же. – 2000. – № 6. – С. 30-33.
5. Рослый И.М., Абрамов С.В., Покровский В.И. Ферментемия – адаптивный механизм или маркер цитолиза? // Вестн. РАМН. – 2002. – № 8. – С. 3-8.
6. Аббасова С.Г., Липкин В.М., Трапезников Н.Н., Кушлинский Н.Е. Система FAS и FASL в норме и патологии // Вопросы биологической медицины, фармакологии, химии. – 1999. – № 3. – С. 3-17.
7. Дмитриева Е.В., Москалева Е.Ю., Коган Е.А. и др. Роль системы FAS/FASL в индукции апоптоза гепатоцитов при хронических вирусных гепатитах // Архив патологии. – 2003. – № 6. – С. 13-17.
8. Дмитриева Е.В., Москалева Е.Ю., Северин Е.С. Роль апоптоза в патогенезе хронических вирусных гепатитов В и С // Росс. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2003. – № 5. – С. 7-13.

INDUCTION OF LYMPHOCYTE APOPTOSIS AT ACUTE VIRAL HEPATITIS B IN CHILDREN – IS IT A MARKER OF HEPATOCYTE CYTOLYSIS?

I.R. Mavlyanov, B.V. Shukurov

SUMMARY. Expression of activation receptors CD25, CD95, CD38 and cytolysis parameters: the level of ALT and AST in blood serum were studied in children with acute hepatitis B. It was shown that acute hepatitis B in children was associated with enhanced expression of CD25, CD95, CD38 receptors which indicated the acceleration of blood lymphocyte apoptosis. The increase of ALT and AST levels was noted in blood serum of ill children. A conclusion was made that presence of direct relationship between induction of blood lymphocyte apoptosis and fermentemia didn't allow to unambiguously judge about direct relation between lymphocyte apoptosis and apoptosis-mediated hepatocyte cytolysis.

Key words: apoptosis, cytolysis, hepatitis B.

© Колектив авторів, 2008
УДК 616-022.6(477)

**І.В. Дзюблик, О.В. Обертинська, І.Г. Костенко, Н.М. Тіхненко, Н.І. Миколенко,
Ж.В. Хатинська, А.А. Бойко**

ПОШИРЕННЯ РОТАВІРУСІВ У ВОДНИХ ОБ'ЄКТАХ ДОВКІЛЛЯ УКРАЇНИ

Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, централізована вірусологічна лабораторія Одеської обласної СЕС, вірусологічна лабораторія міської СЕС м. Києва, вірусологічна лабораторія Сумської обласної СЕС, вірусологічна лабораторія Харківської обласної СЕС

Показано доцільність використання нового методу концентрації на гідрогелі метилкремнієвої кислоти (ГМКК) та алгоритмів санітарно-гігієнічних досліджень води з використанням простих/швидких тестів на основі імуно-хроматографічного аналізу (ІХА) з метою моніторингу води різного виду водокористуван-

ня. Вперше показано поширення ротавірусів (РВ) у водних об'єктах 20 адміністративно-територіальних зон України.

Ключові слова: вода, ротавірус, поширення, метод, моніторинг.